THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS 6

Spécialité

Océanologie, Météorologie et Environnement

Présentée par

Catherine MUNSCHY

Pour obtenir le diplôme de Docteur de l'Université PARIS 6

COMPORTEMENT GEOCHIMIQUE DES HERBICIDES ET DE LEURS PRODUITS DE DEGRADATION EN MILIEU ESTUARIEN ET MARIN COTIER

Soutenue le 11 Avril 1995, devant le jury composé de MM :

P. NIVAL M. MARCHAND J. READMAN A. SALIOT P. SCRIBE J. TRONCZYNSKI Université Paris 6 (Président du jury) IFEN, Orléans (Rapporteur) IAEA, Monaco (Rapporteur) Université Paris 6 Université Paris 6 IFREMER, Nantes

A Megaptera novaeangliae, et à Luc (Ah-Ah !!!!)



[&]quot;The herring's nothin' . . . I'm going for the whole shmeer!"



AVANT TOUT

Ahhhh !!! Les remerciements !!!! Par quoi commencer ????

"Ce travail n'aurait pu aboutir sans l'aide et le soutien de nombreuses personnes....", non, pas bien, ça..... "Sans vous tous je ne suis rien....". Non plus. Bon, l'important étant n'est-ce-pas de les écrire avec sincérité, les voilà....

Le soutien financier que m'a accordé l'ifremer sous la forme d'une allocation de recherche m'a permis d'effectuer ce travail de thèse. Je tiens donc à remercier les personnes qui ont contribué à l'obtention de cette allocation : Messieurs Z. Massoud, Cl. Alzieu, H. Durand, et P. Michel.

Je remercie le Professeur P. Nival qui a accepté de participer à ce jury, et d'en assurer la présidence. Messieurs M. Marchand et J. Readman me font l'honneur d'avoir accepté de rapporter ce travail. Qu'ils soient assurés de ma plus haute gratitude. Le professeur A. Saliot reçoit ma considération à plusieurs titres : il est sans aucun doute à l'origine de ma décision de débuter cette thèse. Il m'a par ailleurs toujours soutenue tout au long de mon parcours universitaire. Bien plus, il m'a initiée à l'océanographie et à la biogéochimie marine, qui ont rendu mes études passionnantes. Merci à P. Scribe qui a suivi mon travail et m'a accordé une partie de son temps au cours de la phase de rédaction. Last but not least, je remercie Jacek Tronczynski de m'avoir accueillie au laboratoire et guidée scientifiquement dans mon travail de recherche. Il a été celui qui m'a suivie tout au long de cette thèse ; ses conseils m'ont toujours été d'une très grande aide.

Je remercie l'équipe du laboratoire côtier de La Tremblade : M. D. Masson, ainsi que Nicole Faury et Jacqueline Ratiskol, qui ont assuré (en plein vent...) les prélèvements réalisés dans les Marais de Charente Maritime. Merci à Messieurs A. Aminot et à R. Kerouel du centre ifremer de Brest qui nous ont accueillis dans leur laboratoire pour nos analyses du COD.

Au laboratoire de Nantes, merci à Isabelle Truquet qui a réalisé les analyses de COP et MES. Je rends hommage au travail de Mme Roselyne Moyon qui a toujours répondu rapidement à nos demandes. Merci aux personnes des services de la bibliothèque (Annick Radenac et Michelle L'Excellent), ainsi qu'à celles de la reprographie pour avoir assuré rapidement la reproduction des différentes versions de cette thèse. Un grand remerciement à M. Louis Giboire qui a réalisé avec talent les cartes et schémas de ce document, et répondu à mes (trop ?) nombreuses demandes de modification.

Au sein du laboratoire, j'ai trouvé des gens fort sympathiques qui ont grandement contribué à rendre mon séjour agréable. Je pense en particulier à Jane qui m'a suivie jusque dans cet hôtel sordide des bords du Rhône, à Dominique à qui je présente toutes mes excuses pour l'avoir si souvent battu au squash (désolée Hé-Hé !), et à ma jeune et dynamique collègue Karine. Une pensée émue (Snif) pour Marina qui est maintenant passée au Sud de La Loire ; je la remercie d'avoir couvert certains de mes éclats de rire par les siens (et il parait (??) que c'est vraiment un exploit), et d'avoir pu échanger nos impressions "entre thésards". Mes autres collègues doctorants, Christophe, Rachid et Rome-gé ont aussi été des interlocuteurs compréhensifs. La p'tite Framboise reçoit également toute mon amitié. Merci aussi à JPB (Jean-Paul-Baloo...) qui a (entre autre...) été mon fournisseur de chocolats (excellents !!!) pendant la période de rédaction de ce document.

Honneur maintenant à mes racines parisiennes : merci tout particulier à Virginie et Pello pour bien plus de dix ans (dix ans !!!!!) de rigolades. Je n'oublie pas la joyeuse et sympathique équipe des astronomes de l'Observatoire de Meudon (allez l'OM !!) pour m'avoir si souvent accueillie parmi eux. Je pense tout particulièrement à Riri (tiens donc...) pour sa présence à mes côtés et pour avoir supporté ces derniers temps mes trop nombreux : "J'y arriverai jamais !!....", mais aussi, par ordre d'apparition, à Marco, François, Benoïte, Laurent qui-n'a-même-rien-dit-quand-j'ai-anéanti-ses-120 Mbytes, Philippe et Karine, et Henri.

Je finirai par remercier mes proches et surtout ma môman Vizette sans qui tout ceci n'eut point été possible, mais alors pas du tout.

Je ne dédie pas ma thèse à ce maudit train du lundi matin à 06h45 en gare de Paris Montparnasse (voie 2) qui m'a trop souvent laissée proche de cet état :



et pas loin de.....



SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

Chapitre 1

ETAT DES CONNAISSANCES

Résumé	5
1. Le milieu aquatique estuarien	7
1.1. L'estuaire : définition	7
1.2. Classification	8
1.3. Les échelles de temps caractéristiques d'un estuaire	8
1.4. L'estuaire : zone d'interfaces et de gradients	9
1.5. Comportement d'un composé au cours de la dilution estuarienne	9
1.6. L'estuaire en tant que site intégrateur	12
1.7. La connaissance des zones côtières : une nécessité	13
2. Les pesticides	13
2.1. Définition, utilisation	13
2.2. Coefficients de partage et de distribution d'un composé organique dans l'environnement	15
2.3. Contamination de l'environnement par les pesticides	16
2.4. Cas particulier de l'environnement aquatique	17
2.5. L'importance quantitative des herbicides	18
3. Etude particulière d'une famille d'herbicides : les triazines	19
3.1. Structure, propriétés physico-chimiques, mode d'action	19
3.2. Transformations dans l'environnement	22
3.3. Niveaux de présence dans les eaux continentales	23
3.4. Techniques analytiques: état actuel des connaissances et orientations	23
4. Les produits phytosanitaires en zone estuarienne	24
4.1. Transport vers les zones côtières	24
4.2. Comportement au cours de la dilution estuarienne	27
4.3. Cinétiques de dégradation en milieu estuarien	27

I

4.4. Niveaux de présence dans les eaux côtières Européennes	28
4.5. Toxicité vis-à-vis des organismes aquatiques estuariens et marins	28
4.6. Besoins en recherche	30

L'ANALYSE DE COMPOSES HERBICIDES A L'ETAT DE TRACES DANS LES ECHANTILLONS NATURELS

ésumé	3
c9u111c	0

A) STRATEGIES D'ETUDE

1.	Stratégies d'échantillonnage	34
	1.1. Profils longitudinaux estuariens	34
	1.2. Points fixes	35
	1.3. Suivi saisonnier	35
	1.4. Campagnes de prélèvements	36
	1.5. Méthode de prélèvement	36
2.	Protocoles d'analyse d'échantillons naturels	37
	2.1. Spécificités	37
	2.2. Matériel et produits	38
	2.3. Séquence analytique générale	38
	2.4. Filtration	39
	2.5. L'Ultra-Filtration Tangentielle (UFT)	40
	2.6. Etalonnage interne	43
	2.7. Extractions des composés en phase dissoute	43
	2.8. Extractions des composés en phase particulaire	46
	2.9. Concentrations des extraits	46
	2.10. Purification et séparation	46
	2.11. Identification et dosage	47

B) DEVELOPPEMENTS METHODOLOGIQUES

3. Etude de l'influence du stockage prolongé d'échantillons d'eau filtrée	
4. L'extraction des herbicides en phase dissoute	54
4.1. Procédure d'évaluation des performances des méthodes	55
4.2. Evaluation des performances de l'ELL	56

	4.3 Evaluation des performances de l'ELS	58
	4.4. Planes de manipulation	50
		55
	4.5. Etude comparative de l'ELL et de l'ELS sur des échantillons estuariens	62
	4.5.1. Estuaire de la Charente : ELL et ELS sur disques Empore	63
	4.5.2. Estuaire de la Gironde: comparaison ELL et ELS sur résine XAD-2	69
5	. Mise au point d'une méthode de purification et séparation	75
6	 Séparation des composés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à haute résolution 	79
	6.1. Généralités	79
	6.2. Comportement chromatographique de divers pesticides sur deux colonnes polarités différentes	de 80
	6.3. Discussion	83
	6.4. Application à la quantification d'échantillons naturels : résultats comparés su deux colonnes de polarités différentes	ır 86
7	. Etude des caractéristiques du détecteur NPD	90
	7.1. Sélectivité de la réponse	91
	7.2. Sensibilité et bruit de fond : limite de détection instrumentale	91
	7.3. Détermination du domaine de linéarité	94
	7.4. Calibration de la réponse	95
	7.5. Stabilité de la réponse	99
	7.6. Conclusion	100
8.	. Conclusions	101

VARIABILITE TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS EN PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LES CANAUX AGRICOLES DES MARAIS DE CHARENTE-MARITIME

Résumé	. 103
1. Les canaux des Marais de Charente-Maritime	. 105
1.1. Présentation du site	. 105
1.2. Plan d'échantillonnage	. 107
1.3. Caractéristiques des canaux	. 109
2. Contamination des eaux par les pesticides en phase dissoute	. 113
2.1. Nature des composés identifiés	. 113

	2.2. Niveaux de présence	113
	2.3. Variations saisonnières des concentrations en triazines et DEA	117
	2.4. Produits de dégradation déalkylés, et rapport DAR (DEA/atrazine)	122
	2.5. Influence de la pluviométrie	125
	2.6. Variabilité inter-annuelle	130
3.	Les herbicides en phase particulaire	131
	3.1. Contamination d'un sol agricole	131
	3.2. Herbicides associés aux MES : coefficients de distribution	133
4.	Conclusions	137

COMPORTEMENT GEOCHIMIQUE ET TRANSPORT DES HERBICIDES EN MILIEU ESTUARIEN ET MARIN COTIER

Résumé13	9
t l'actuaire de la Oberente et la bassia de Marsana e Olízen	
1. L'estuaire de la Charente et le bassin de Marennes-Oleron	1
1.1. Présentation du site14	1
1.2. Campagnes de prélèvements 14	2
1.3. Variations spatiales des concentrations dans le bassin 14	3
1.4. Mélange des eaux lors d'un cycle de marée14	6
1.5. Dilution dans l'estuaire de la Charente14	7
11.6. Variations saisonnières15	1
2. L'estuaire de la Gironde	3
2.1. Présentation du site	3
2.2. Campagnes de prélèvements 15	3
2.3. Résultats - février 1992 15	5
2.4. Résultats - juin 199315	8
3. Le delta du Rhône	8
3.1. Présentation du site	8
3.2. Campagne de prélèvements16	9
3.3. Résultats 17	0
4. Séparation de la phase colloïdale par Ultra-Filtration Tangentielle (UFT) 17	4
4.1. Motifs de l'étude	4
4.2. L'estuaire de la Seine	5

4.3. Campagne de prélèvements 17	5
1.4. Résultats	7
4.4.1. Séparation du COD17	7
4.4.2. Partage des herbicides 178	8

ETUDE COMPAREE DES DIFFERENTS SYSTEMES ESTUARIENS

1. Nature des composés identifiés en phase dissoute 1	83
2. Notion d'empreinte 1	85
3. Niveaux de concentration1	87
4. Flux journaliers1	89
5. Comportement géochimique au cours de la dilution estuarienne1	91
6. Rapport DEA/atrazine (DAR)19	94
6.1. Variations du DAR1	94
6.2. Evolution du DAR le long des profils estuariens 1	94

CONCLUSIONS	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

ł

Liste des abréviations utilisées

BCF : Bioconcentration Factor

COD : Carbone Organique Dissous

COP : Carbone Organique Particulaire

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

DAR : DEA-Atrazine-Ratio

DEA : Dé-Ethyl-Atrazine

DIA : Dé-Isopropyl-Atrazine

DDA : Atrazine Di-Déalkylée

ELL : Extraction Liquide-Liquide

ELS : Extraction Liquide-Solide

EPA : Environmental Protection Agency

HA : Hydroxy-Atrazine

HTCO : High Temperature Catalytic Oxydation

LC50-96h : Concentration Létale entraînant la mort de 50% de la population en 96 heures.

MES : Matières En Suspension

NPD : Nitrogen Phosphorus Detector

NTU : Unité de Turbidité Néphélométrique

Pk : Point Kilométrique

SAU : Surface Agricole Utilisée

SM : Spectrométrie de Masse

UFT : Ultra-Filtration Tangentielle

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre 1	
Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques de deux chloro-triazines largement utilisées : Ia simazine et l'atrazine, et de leurs produits de dégradation	21
Chapitre 2	
Tableau 2.1 : Campagnes de prélèvements et stratégies d'échantillonnage	36
Tableau 2.2 : Conditions expérimentales utilisées en CPG/NPD	50
Tableau 2.3 : Conditions expérimentales utilisées en CPG/SM	50
Tableau 2.4 : Variations des niveaux de concentrations (ng.l-1) en divers herbicides, et du rapport DEA/atrazine (DAR) au cours de sept mois de stockage d'un échantillon naturel prélevé en juin 1993 sur la Garonne	52
Tableau 2.5 : Niveaux de concentration (ng.l ⁻¹) en herbicides déterminés par ELL sur deux réplicats d'un échantillon de 20 litres prélevé en novembre 1993 sur la Charente	57
Tableau 2.6 : Rendements moyens et précision obtenus par ELL sur un échantillon d'eau de rivière prélevé sur la Charente (n=7)	57
Tableau 2.7 : Niveaux de concentration (ng.l ⁻¹) en herbicides déterminés par ELS (XAD- 2) sur trois réplicats d'un échantillon de 3 litres prélevé en novembre 1993 en baie de Seine. 5	58
Tableau 2.8 : Rendements moyens et précision obtenus par ELS sur un échantillon d'eau marine prélevée en baie de Seine en novembre 1993 (n=7). 5	9
 Tableau 2.9 : Niveaux de concentration (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine, et DEA obtenus selon deux méthodes d'extraction: ELL (extraction liquide-liquide) et ELS (extraction liquide-solide) sur disques Empore. Estuaire de la Charente, février 1992. 	64
Tableau 2.10 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Niveaux de concentration (ng.l-1) en simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine et métolachlor selon deux méthodes d'extraction : ELL et ELS sur résine XAD-2.	0
Tableau 2.11 : Pourcentages de récupération de différents herbicides sur colonne de silice, (2g., 6% H ₂ O), dans les fractions II + III. 7'	7
Tableau 2.12 : Temps de rétention de divers pesticides sur colonne non polaire (DB5)	1
Tableau 2.13 : Temps de rétention de divers pesticides sur colonne polaire (DX4). 82	2
Tableau 2.14 : Temps de rétention et log Kow des chloro-triazines et produits déalkylés 84	4
Tableau 2.15 : Résultats des quantifications réalisées sur deux colonnes de polarités différentes (DB5 et DX4) pour des échantillons prélevés dans l'estuaire de la Charente en février 1992. 8	7
Tableau 2.16 : Reproductibilité de la réponse du détecteur NPD pour une injection d'un microlitre d'un mélange d'herbicides. 100	0
Chapitre 3	
Tableau 3.1 : Variations temporelles des concentrations en simazine, atrazine et DEA dans le canal de Marennes. 114	4
Tableau 3.2 : Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA dans le canal de Charras. 11!	5

Tableau 3.3 : Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA dans le canal du Grand Garçon. 11	6
Tableau 3.4 : Comparaison des niveaux de concentration (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine etDEA dans trois canaux des Marais de Charente-Maritime de Septembre1992 à Septembre 1993	7
Tableau 3.5 : Variations temporelles du rapport DEA/atrazine (DAR) dans les canaux de Marennes, Charras et Brouage.12	25
Tableau 3.6 : Caractéristiques physico-chimiques des échantillons analysés 13	4
Tableau 3.7 : Composés identifiés en phase particulaire et coefficients de distribution(Kd, Koc) calculés	36
Chapitre 4	
Tableau 4.1.1 : Gamme des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine, DEA, et valeurs du rapport DAR rencontrées dans les eaux côtières de Marennes- Oléron en mai 1991 ("GAEL 1")	4
Tableau 4.1.2 : Concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA, et valeurs du rapport DEA/atrazine (DAR) dans la bassin de Marennes-Oléron en juin 1993 (Campagne "TRESTERB")	-6
Tableau 4.1.3 : Niveaux de concentration (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA, et rapport DEA/atrazine (DAR) sur un profil réalisé en février 1992 sur l'estuaire de la Charente (Campagne "GAEL 2")	8
Tableau 4.1.4 : Variations du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction des périodes d'échantillonnage	2
Tableau 4.2.1 : Niveaux de concentration en tebutam, simazine, atrazine et DEA, et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en février 1992.	5
 Tableau 4.2.2 (Extractions Liquide / Liquide) et 4.2.3 (Extractions Liquide / Solide) : Niveaux de concentration en simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine, métolachlor, et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde, juin 1993. 	51
Tableau 4.2.4 : Flux bruts journaliers (kg.j ⁻¹) en herbicides entrant dans l'estuaire de la Gironde, et contributions relatives de la Garonne et de la Dordogne. (Juin 1993).16	7
Tableau 4.3.1 : Variations journalières des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine,DEA et du rapport DEA/atrazine (DAR) en Arles en juillet 1992.170	0
Tableau 4.3.2 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA en ng.l ⁻¹ , et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité du delta du Rhône, juillet 1992	'1
Tableau 4.4.1 : Caractéristiques physico-chimiques des échantillons prélevés dansl'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval")170	6
Tableau 4.4.2: Concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine DEA et tebutam dans les échantillons prélevés sur l'estuaire de la Seine en octobre 1993. Extractions liquide-liquide et liquide-solide sur résines XAD-2	7
Tableau 4.4.3: Concentrations en COD et COC (μmol.l ⁻¹) dans l'eau filtrée à 0.7 μm et dans les différentes fractions ultra-filtrées à 50 kD et 10 kD	8
Tableau 4.4.4 à 4.4.7 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA et tébutam dans lesdifférentes fractions des échantillons prélevés dans l'estuaire de la Seine enoctobre 1993 (Campagne "Seine-Aval")	9

Tableau 5.1	: Contamination des eaux estuariennes et marines côtières par deux herbicides de la famille des chloro-triazines (simazine et atrazine) et un de leurs produits de dégradation (DEA). Niveaux de concentrations exprimés en	
	ng.l ⁻¹	188
Tableau 5.2	: Comparaison des Surfaces Agricoles Utilisées (SAU) et de leur occupation sur les différents bassins versants. (D'après Collet 1987 et AGRESTE 1993)	189
Tableau 5.3	: Concentrations fluviales et marines (ng.l ⁻¹) et flux bruts journaliers en simazine, atrazine, et DEA dans quatre estuaires ou delta des côtes françaises.	190
Tableau 5.4	: Comparaison des équations de régression linéaire et des équations de dilution théorique obtenues sur les différents profils estuariens.	192

LISTE DES FIGURES

Chapitre 1

1

Figure 1.1	: Droite de dilution observée lors du mélange conservatif d'un composé dissous dans un estuaire. Les concentrations au niveau de la référence fluviale et de la zone marine sont constantes	11
Figure 1.2	: Courbe de dilution observée lors du mélange conservatif d'un composé dissous dans un estuaire, avec la concentration au niveau de la référence fluviale qui diminue selon une périodicité journalière, et de 50 jours.	12
Figure 1.3	: Structure moléculaire de base des triazines (1, 3, 5 s-triazines)	20
Figure 1.4	: Modes de transport des pesticides des zones d'épandage vers les eaux estuariennes.	26
Chapitre 2	2	
Figure 2.1	: Séquence analytique générale	39
Figure 2.2	: Schéma du principe d'ultra-filtration tangentielle sur une membrane minérale multi-canaux	41
Figure 2.3	: Dispositif expérimental d'Ultra-Filtration Tangentielle	42
Figure 2.4	: Shéma du dispositif expérimental mis en place lors de l'ELS sur résines XAD-2.	45
Figure 2.5	: Suivi temporel des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA au cours de sept mois de stockage d'un échantillon naturel prélevé sur la Garonne en juin 1993	53
Figure 2.6	: Evolution du rapport DEA/atrazine (DAR) au cours de sept mois de stockage d'un échantillon naturel prélevé sur la Garonne en juin 1993	53
Figure 2.7	: Chromatogrammes obtenus en GC/NPD pour un blanc réalisé par ELL sur 15 litres d'eau bi-distillée concentrée 1.5 x 10 ⁵ fois (trait plein), et un mélange étalon d'herbicides (pointillés)	61
Figure 2.8	: Blanc réalisé sur 200 ml de solvant concentré 1000 fois et injecté en GC/NPD. Mélange étalon d'herbicides (pointillés) : DIA, DEA, tebutam, simazine, atrazine, terbuthylazine, alachlor, prometryne, metolachlor, pretilachlor	62
	production	02

Figures 2.9	a à 2.9 c : Comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'extraction (ELL et ELS sur disques Empore) sur un profil réalisé sur la Charente en février 1992.	65
Figures 2.10) a à 2.10 c: Comparaison des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA déterminées par ELL (abscisses) et par ELS (ordonnées) sur disques Empore. En pointillés: droites de régression linéaire.	67
Figures 2.1	1 a à 2.11 e: Comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'extraction (ELL en noir et ELS sur résine XAD-2 en blanc) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en juin 1993	71
Figure 2.12	: Comparaison des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine et DEA déterminées par ELL (abscisses) et par ELS (ordonnées) sur résines XAD-2. En pointillés : droites de régression linéaire.	73
Figure 2.13	: Chromatogrammes obtenus en GC/NPD sur colonne DB-5 30 m x 0.32 mm. En trait plein : blanc réalisé sur une colonne de purification de silice. En pointillés : solution étalon d'un mélange d'herbicides après passage sur colonne de purification de silice (1) DIA, (2) DEA, (3) tebutam, (4) simazine, (5) atrazine, (6) terbuthylazine, (7) cyprazine, (8) alachlor, (9) prometryne, (10) metolachlor, (11) pretilachlor.	78
Figure 2.14	: Composition de la phase adsorbante de la colonne DB5	80
Figure 2.15	: Composition de la phase adsorbante de la colonne DX4	80
Figure 2.16	: Chromatogramme obtenu en GC/NPD sur une colonne non polaire (DB5) pour le mélange de pesticides suivant : (1) eptc, (2) molinate, (3) DIA, (4) DEA, (5) tebutam, (6) simazine, (7) atrazine, (8) terbumeton, (9) trietazine, (10) cyprazine, (11) méthyl-parathion, (12) ametryne, (13) prometryne, (14) fenitrothion, (15) malathion, (16) metolachlor, (17) parathion, (18) pretilachlor. Les quantités injectées varient entre 671 pg et 2004 pg	82
Figure 2.17	: Chromatogramme obtenu en GC/NPD sur une colonne polaire (DX4) pour le même mélange de pesticides que sur la figure 2.16. Les quantités injectées varient entre 950 pg et 4935 pg	83
Figure 2.18	: Variation du temps de rétention des chlorotriazines sur colonne DB5 en fonction du logarithme du coefficient de partage octanol/eau (log Kow)	84
Figure 2.19	: Variation du temps de rétention des chlorotriazines sur colonne DX4 en fonction du logarithme du coefficient de partage octanol/eau (log Kow).	85
Figure 2.20	 Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon d'eau (16 litres) prélevé sur l'estuaire de la Charente en février 1992. Les numéros des pics correspondent aux composés suivants : (4) DEA, (6) simazine, (7) atrazine, E.I. pour Etalon Interne (cyprazine) 	87
Figure 2.21	 Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DX4 pour un échantillon d'eau (16 litres) prélevé sur l'estuaire de la Charente en février 1992. Les numéros des pics sont les mêmes que sur la figure 2.20 : (4) DEA, (6) simazine, (7) atrazine, E.I. pour Etalon Interne (cyprazine) 	88
Figure 2.22	: Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon d'eau (14 litres) prélevé à Poses (Seine) en octobre 1993. ELS sur résine XAD-2. Les numéros des pics correspondent aux composés suivants: (2) DEA, (3) tebutam, (4) simazine, (5) atrazine.	89
Figure 2.23	: Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DX4 pour un échantillon d'eau (14 litres) prélevé à Poses (Seine) en octobre 1993. ELS sur résine XAD-2. Les numéros des pics correspondent aux composés suivants : (2) DEA, (3) tebutam, (4) simazine, (5) atrazine.	90

Х

Figure 2.24	: Réponse du détecteur NPD à l'injection en CPG sur colonne non polaire (DB5) du mélange d'herbicides suivant : 1. DIA (409 pg), 2. DEA (283 pg), 3. tebutam (312 pg), 4. simazine (292 pg), 5. atrazine (348 pg), 6. terbuthylazine (311 pg), 7. alachlor (523 pg), 8. prometryne (272 pg), 9. metolachlor (575 pg), 10. pretilachlor (657 pg). Courant : 3.22 A	92
Figure 2.25	: Détail du bruit de fond obtenu en CPG/NPD entre 25 et 35 minutes, pour un courant appliqué à la bille de 3.22 A	93
Figure 2.26	: Linéarité du détecteur NPD pour l'atrazine : variation du rapport réponse/quantité injectée (R/C) en fonction du logarithme de la quantité injectée.	95
Figure 2.27	à 2.32 : Droites de calibration obtenues en GC/NPD pour différents pesticides. Courant appliqué à la bille : 3.2 A.	96
Chapitre 3		
Figure 3.1	: Site d'étude du suivi temporel de la contamination des canaux des marais agricoles de Charente Maritime par les produits phytosanitaires. Les flèches indiquent les points de prélèvements.	108
Figure 3.2	: Variations temporelles des caractéristiques physico-chimiques des eaux du Canal de Marennes (Mai 1992-Septembre 1993).	110
Figure 3.3	: Variations temporelles des caractéristiques physico-chimiques des eaux du Canal de Charras (Mai 1992-Novembre 1993).	111
Figure 3.4	: Variations temporelles des caractéristiques physico-chimiques des eaux du Canal du Grand Garçon (Brouage) (Mai 1992-Novembre 1993)	112
Figure 3.5	: Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine, DEA, et du rapport DAR dans le canal de Marennes.	118
Figure 3.6	: Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine, DEA, et du rapport DAR dans le canal de Charras.	119
Figure 3.7	: Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine, DEA, et du rapport DAR dans le canal du Grand Garçon.	120
Figure 3.8	: Mécanismes préférentiels de dégradation de l'atrazine, la simazine, la DEA et la DIA (d'après Mills et Thurman, 1994 b).	123
Figure 3.9	: Précipitations (mm) enregistrées par décades sur les stations affectant le canal de Charras (Muron et St-Laurent). Données extraites du bulletin mensuel climatologique de la Charente-Maritime	126
Figure 3.10	: Canal de Marennes. Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en atrazine, DEA, simazine, du rapport DEA/atrazine (DAR), et des précipitations (mm) enregistrées à Moëze.	127
Figure 3.11	: Canal de Charras. Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en atrazine, DEA, simazine, du rapport DEA/atrazine (DAR), et des précipitations (mm) enregistrées sur les stations de Muron et St-Laurent	128
Figure 3.12	. Canal du Grand Garçon. Variations temporelles des concentrations (ng.l ⁻¹) en atrazine, DEA, simazine, du rapport DEA/atrazine (DAR), et des précipitations (mm) enregistrées à Moëze.	129
Figure 3.13	: Echantillon de sol prélevé en avril 1992 sur une culture de maïs proche du canal du Grand Garçon. Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne non polaire (DB5), après passage de l'échantillon sur colonne de purification sur silice.	132

Figure 3.14	 Chromatogrammes obtenus en CPG/NPD sur colonne polaire DX4 pour l'échantillon de MES prélevé à Brouage le 21 juin 1993 (trait continu) et le mélange d'herbicides suivants (trait pointillé) : 1. DIA (1022 pg), 2. DEA (708 pg), 3. tebutam (780 pg), 4. simazine (731 pg), 5. atrazine (869 pg), 6. terbuthylazine (778 pg), 7. alachlor (1308 pg), 8. prometryne (680 pg), 9. metolachlor (1437 pg), 10. pretilachlor (1642 pg). 	35
Figure 3.15	: Chromatogramme obtenu en CPG/ECD sur colonne DB5 (60 m x 0.25 mm) pour l'échantillon de MES prélevé à Brouage en juillet 1992. Fraction l récupérée après purification sur colonne de silice	35
Chapitre 4		
Figure 4.1.1	: Sites de prélèvements et distribution spatiale des concentrations en simazine et atrazine (ng.l ⁻¹) dans les eaux estuariennes et côtières du bassin de Marennes-Oléron du 30 avril au 4 mai 1991 (Campagne "GAEL 1")	43
Figure 4.1.2	: Positions des sites de prélèvements dans le bassin de Marennes-Oléron en juin 1993 (Campagne "TRESTERB")	15
Figure 4.1.3	: Variation des concentrations en simazine et atrazine (ng.l ⁻¹) dans la rade de l'île d'Aix au mois de février 1992 en fonction du cycle de marée (Campagne "GAEL 2")	46
Figure 4.1.4	: Position des points de prélèvements réalisés en février 1992 le long du gradient de salinité de la Charente (Campagne "GAEL2") 14	17
Figure 4.1.5	: Variations des concentrations en simazine en fonction de la salinité le long de l'estuaire de la Charente en février 1992 (Campagne "GAEL 2") 14	19
Figure 4.1.6	: Variations des concentrations en atrazine en fonction de la salinité le long de l'estuaire de la Charente en février 1992 (Campagne "GAEL 2") 14	19
Figure 4.1.7	: Variations des concentrations en DEA le long du gradient de salinité de la Charente en février 1992. Quantifications en CPG/NPD sur colonne DB5 (a) et DX4 (b)	51
Figure 4.2.1	: Carte des sites de prélèvements effectués le long de l'estuaire de la Gironde les 16 et 17 février 1992 (campagne "GAEL2") 15	54
Figure 4.2.2	: Estuaire de la Gironde, février 1992 (Campagne "GAEL 2"). Variations des concentrations (ng.l ⁻¹) en atrazine en fonction de la salinité 15	6
Figure 4.2.3	: Estuaire de la Gironde, février 1992 (Campagne "GAEL 2"). Droite de régression (r significatif à 0.1%) obtenue sur la variation des concentrations (ng.l ⁻¹) en atrazine en fonction de la salinité	6
Figures 4.2.	 4 : Estuaire de la Gironde, février 1992 (Campagne "GAEL 2"). Variations des concentrations (ng.l⁻¹) en tebutam en fonction de la salinité. Le trait plein représente la droite de dilution conservative. Le trait pointillé est une extrapolation de la droite de régression (n = 4) obtenue sur les points salins 15 	58
Figure 4.2.5	: Carte des sites de prélèvements effectués le long de l'estuaire de la Gironde en juin 1993 (Campagne "TRESTERB")	9
Figure 4.2.6	: Variation des concentrations en COD (µmol.l ⁻¹) en fonction de la salinité dans l'estuaire de la Gironde, juin 1993	60
Figure 4.2.7	: Estuaire de la Gironde, juin 1993 (Campagne "TRESTERB"). Variation des concentrations en atrazine (ng.l ⁻¹) en fonction de la salinité	2
Figure 4.2.8	: Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variation des concentrations en atrazine (ng.l ⁻¹) en fonction de la salinité. En trait pointillé : droite de régression linéaire de coefficient r ² significatif à 0.1%	3

XII

Figure 4.2.9	: Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variation des concentrations en atrazine (ng.l ⁻¹) en fonction de la salinité. En trait continu : droite de dilution conservative théorique.	164
Figure 4.2.1	0 : Variations journalières des débits enregistrés sur la Garonne à La Réole (trait pointillé) et la Dordogne (débits cumulés Dronne + Isle + Dordogne) (trait plein) en mai et juin 1993	165
Figure 4.2.1	1 : Courbe de dilution observée lors du mélange conservatif d'un composé dissous dans un estuaire, avec la concentration au niveau de la référence fluviale qui diminue selon une périodicité journalière, et de 50 jours.(D'après Loder et Reichard, 1981)	165
Figure 4.3.1	: Position des sites de prélèvements réalisés du 22 au 26 juillet 1992 sur le delta du Rhône.	169
Figure 4.3.2	: Variations journalières du débit du Rhône en juillet 1992. Les flèches indiquent la période de prélèvement.	170
Figure 4.3.3	: Variations des concentrations en simazine (ng.l ⁻¹) en fonction de la salinité sur un profil réalisé en juillet 1992 sur le delta du Rhône	171
Figure 4.3.4	: Variations des concentrations en atrazine (ng.l ⁻¹) en fonction de la salinité sur un profil réalisé en juillet 1992 sur le delta du Rhône	172
Figure 4.3.5	: Variations des concentrations en DEA (ng.l ⁻¹) en fonction de la salinité sur un profil réalisé en juillet 1992 sur le delta du Rhône.	172
Figure 4.3.6	: Droite de régression des concentrations en atrazine en fonction de la salinité. Le coefficient r ² est significatif à 0.1% (F=37)	173
Figure 4.3.7	: Variations journalières des concentrations (ng.l ⁻¹) en simazine, atrazine, et DEA en Arles en juillet 1992, et des débits (m ³ .sec. ⁻¹) du fleuve (trait continu)	173
Figure 4.4.1	: Position des sites de prélèvement des échantillons dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval").	176
Chapitre 5		
Figure 5.1	: (a) : Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon prélevé en Arles en juillet 1992. (b) : signal correspondant aux pics uniques. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine, 4. terbuthylazine.	186
Figure 5.2	: Chromatogramme des composés communs aux quatre estuaires étudiés. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine, 4. terbuthylazine. b1 et b2 sont présents dans les blancs de manipulation.	187
Figure 5.3	: Variation du rapport C ₀ /pente des droites de dilution théorique en fonction de la concentration fluviale C ₀ .	193
Figure 5.4	: Evolution du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction de la salinité sur les profils estuariens de la Gironde et du Rhône au mois de juin-juillet	195
Figure 5.5	: Evolution du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction de la salinité sur les profils estuariens de la Charente et de la Gironde au mois de février	195



INTRODUCTION

Notre projet de recherche s'insère dans une problématique générale d'étude du transport et du comportement géochimique des composés organiques dans les zones côtières. Notre étude a concerné plus particulièrement les herbicides, contaminants d'origine exclusivement anthropique introduits en quantités importantes dans l'environnement dès la seconde moitié du 20ème siècle. Ces composés, de par leur utilisation massive, leur mobilité et leur caractère biocide, sont aujourd'hui au centre des préoccupations relatives à la contamination de l'environnement aquatique (Humenik *et al.*, 1987 ; Hallberg, 1989 ; Buser, 1990 ; Fielding *et al.*, 1992 ; Ritter *et al.*, 1994).

Cette thèse s'insére également dans le cadre du programme de recherche développé à l'IFREMER concernant le devenir des produits phytosanitaires en milieu côtier. La problématique liée à l'impact de ces composés sur la qualité des eaux littorales avait fait l'objet de quelques études ponctuelles au sein de l'IFREMER (Marchand, 1989) et avait été clairement définie dès 1990 (Tronczynski, 1990).

Depuis la seconde guerre mondiale, l'utilisation de pesticides organiques de synthèse s'est considérablement accrue (McEwen et Stephenson, 1979 ; Pimentel *et al.*, 1993). Ces composés, utilisés principalement en agriculture, regroupent des substances à usage généralement spécifique (insecticides, herbicides, fongicides,...).

Les herbicides constituent la grande majorité des produits phytosanitaires utilisés dans les pays industrialisés : ils représentent deux tiers de la totalité des composés utilisés aux Etats-Unis, et un tiers en France (Sherma, 1993 ; Collet, 1988). Ces substances, introduites directement dans l'environnement, sont susceptibles, en fonction

de leurs propriétés physico-chimiques, d'être transportées jusqu'au milieu aquatique. Les propriétés physico-chimiques des molécules déterminent en effet en premier lieu leur comportement dans l'environnement (Braumann, 1986). Après leur épandage sur les cultures, la dispersion dans l'environnement des produits phytosanitaires mobiles et peu volatils s'effectue vers le milieu aquatique continental superficiel et vers les eaux souterraines. Par suite, si ces contaminants sont suffisamment rémanents, ils sont susceptibles d'être transportés vers les zones estuariennes et marines. Les propriétés physico-chimiques des triazines en font de bons candidats au transport vers le milieu aquatique.

En raison de leur utilisation en quantités importantes, de leur mobilité et de leur persistance dans l'environnement, les herbicides sont apparus comme étant des composés préoccupants dans les études portant sur la contamination de l'environnement. Certains de leurs produits de dégradation, parce qu'ils conservent les propriétés phytocides des composés parents, apparaissent progressivement comme étant également préoccupants dans ces études.

Les herbicides sont des biocides agissant en tant qu'inhibiteurs puissants de la photosynthèse. Après leur dispersion dans l'environnement aquatique, ils peuvent avoir une action sur des organismes non ciblés. L'impact de ces composés a notamment été évoqué lors de la diminution des populations de végétaux aquatiques submergés observée en baie de Chesapeake (Etats-Unis) depuis les années 80, et lors de mortalités de coquillages dans le bassin de Marennes-Oléron (Forney et Davis, 1981 ; Means *et al.*, 1983 ; Jones et Winchell, 1984 ; IFREMER, 1989).

Notre projet de recherche a donc porté sur l'étude du transport et du comportement géochimique des herbicides en milieu estuarien et marin côtier. Les zones estuariennes sont le siège de gradients physico-chimiques importants, et de processus intervenant dans le comportement biogéochimique des composés (Morris *et al.*, 1978 ; Martin et Withfield, 1983 ; Mantoura *et al.*, 1991). Par ailleurs, elles constituent des systèmes récepteurs des contaminants d'origine continentale. Elles représentaient donc pour ces deux raisons des sites d'intérêt majeur dans l'étude du comportement des herbicides, contaminants organiques utilisés en quantités importantes. La mise en place de notre projet fut également motivée par le manque de connaissances relatives aux produits phytosanitaires dans les zones estuariennes. Cette absence de données a conféré un caractère prospectif à notre travail.

Les objectifs de notre étude se sont organisés autour de quatre grands axes relatifs aux stratégies d'étude et d'analyse des herbicides et de leurs produits de dégradation dans les échantillons estuariens, et au comportement géochimique de ces composés en milieu estuarien :

 Il s'est agit dans un premier temps d'établir une stratégie d'étude adaptée au milieu estuarien, et de mettre au point des méthodes analytiques permettant la détection des herbicides et de leurs produits de dégradation dans les échantillons naturels. Les techniques analytiques d'identification et de quantification de ces composés relèvent du domaine de l'analyse de traces organiques ; elles nécessitent une maîtrise parfaite et un contrôle des procédures analytiques. La mise au point de ces techniques constituait une étape indispensable à la réalisation de notre étude.

 La présence et les niveaux de concentration des composés herbicides et de leurs produits de dégradation dans les zones estuariennes et marines côtières ont ensuite été déterminés. Ce constat nous permet de fournir des informations sur leur mobilité et leur persistance dans l'environnement.

 Le transport des composés vers le milieu marin côtier a été étudié dans plusieurs estuaires, et la variation des concentrations au cours du mélange estuarien a été déterminée.

La dynamique de transport des herbicides des zones d'épandage vers les eaux côtières, en relation avec les évènements pluviométriques et leur période d'utilisation a été également considérée.

 Le comportement géochimique des herbicides dans les zones de mélange estuarien a été examiné également en terme de distribution entre phases dissoute, colloïdale et particulaire, permettant d'accéder aux calculs des coefficients de partage *in situ*. La détermination de la distribution des composés est essentielle car elle gouverne les modalités de leur transport, leur devenir et leur bio-disponibilité.

L'étude de la phase colloïdale a été entreprise à titre expérimental par ultra-filtration tangentielle sur membranes minérales.

Les sites étudiés ont été choisis parmi les estuaires de trois grands fleuves (Seine, Gironde, Rhône). Les bassins versants de ces fleuves draînent de grandes régions agricoles, et constituent donc des récepteurs potentiels de quantités importantes de produits phytosanitaires. A plus petite échelle, l'estuaire de la Charente a été étudié, en relation avec le bassin de Marennes-Oléron. Ce bassin abrite une activité conchylicole importante. Il reçoit les apports en contaminants venant de la Charente et du réseau hydrographique mis en place au niveau de l'ensemble des Marais de Charente-Maritime. L'impact des activités agricoles sur les mortalités d'huîtres observées en 1988 dans le

bassin a été évoqué par les conchyliculteurs, soulevant ainsi la problématique liée à la juxtaposition des deux activités (IFREMER, 1989). Dans cette région, l'activité agricole est en effet source de changements de la qualité des eaux du bassin (sels nutritifs, pesticides), et de variations importantes de salinité dues à la gestion des stocks d'eau douce.

Le présent document est organisé en cinq parties :

La première fait le point sur l'état des connaissances concernant : 1) les estuaires et leur importance dans les cycles biogéochimiques, 2) et 3) les pesticides et la contamination du milieu aquatique résultant de leur utilisation massive, en s'attachant plus particulièrement au cas d'une famille d'herbicides : les triazines, et 4) la présence et le comportement de ces composés en milieu estuarien.

Ce premier chapitre a comme objectif principal de préciser les connaissances qui ont été essentielles à la réalisation de notre projet de recherche.

 La seconde partie décrit les stratégies d'études et des protocoles analytiques que nous avons suivis au cours de nos recherches. Elle traite en détail les développements analytiques que nous avons mis en place au laboratoire, en soulignant les particularités liées au dosage de composés organiques présents à l'état de traces en milieu estuarien. Cette étude s'appuie sur des résultats obtenus sur des échantillons naturels.

Un effort particulier a été réalisé pour fournir d'une part une description détaillée des différentes étapes des protocoles analytiques utilisés, et d'autre part pour présenter la rigueur nécessaire aux analyses de composés organiques à l'état de trace dans les échantillons estuariens. Ce chapitre constitue donc une part importante de ce manuscrit.

 Dans la troisième partie sont étudiées les variations temporelles des concentrations en herbicides dans les canaux agricoles des marais de Charente Maritime, en relation avec leur période d'utilisation et les évènements pluvieux.

• La quatrième partie détaille les résultats obtenus sur le comportement des herbicides et de leurs produits de dégradation en milieu estuarien, sur trois sites de prélèvement principaux : la Charente et le bassin de Marennes-Oléron, la Gironde et le Rhône. En outre, l'estuaire de la Seine a servi de support à notre étude de la phase colloïdale.

 L'ensemble des résultats obtenus sur les différents systèmes estuariens étudiés sera discuté dans le chapitre 5.

ETAT DES CONNAISSANCES

Résumé

Les estuaires sont des systèmes récepteurs de composés et éléments d'origine continentale, et sont le siège de processus géochimiques complexes. Ils constituent de ce fait des sites d'intérêt majeur dans l'étude du transport et du devenir des contaminants organiques tels que les pesticides vers le milieu marin côtier.

Depuis la seconde moitié du siècle, la synthèse et l'utilisation de pesticides organiques se sont considérablement accrues. Ces substances, principalement utilisées en agriculture, sont directement introduites dans l'environnement. Parmi ces composés, les herbicides, de par leurs propriétés biocides et leur mobilité, sont rapidement devenus préoccupants dans la contamination du milieu aquatique continental. En Europe, leur présence dans les eaux estuariennes et marines côtières n'a été mise en évidence que très récemment. Cependant, la connaissance de leur comportement et de leur devenir dans les systèmes estuariens reste actuellement très limitée, et nécessite de ce fait d'être approfondie.

Mots clés : Zones estuariennes, cycles géochimiques, contamination, herbicides.



ETAT DES CONNAISSANCES

1. Le milieu aquatique estuarien	7
2. Les pesticides	13
3. Etude particulière d'une famille d'herbicides : les triazines	19
4. Les produits phytosanitaires en zone estuarienne	24



ETAT DES CONNAISSANCES

Ce chapitre consiste en une synthèse bibliographique destinée à dresser l'état des connaissances relatives aux pesticides en général, et aux herbicides dans l'environnement aquatique côtier en particulier. Il est organisé en quatre parties. La première décrit le milieu estuarien et souligne l'importance des estuaires dans les cycles géochimiques des contaminants organiques. La seconde présente les préoccupations environnementales liées à l'utilisation des pesticides, en mettant l'accent sur la contamination du milieu aquatique. Les herbicides de la famille des triazines font ensuite l'objet d'un point particulier (§ 1.3). Enfin, la dernière partie examine la problématique d'étude des produits phytosanitaires en zone estuarienne.

1. Le milieu aquatique estuarien

1.1. L'estuaire : définition

Un estuaire peut être défini de façon très générale comme une zone de rencontre entre les eaux douces fluviales d'origine continentale et les eaux salines d'origine océanique. La nécessité croissante de compréhension des phénomènes se produisant au niveau de ces zones a conduit plusieurs auteurs à définir de plus en plus précisément l'estuaire, notamment au niveau de ses limites dans l'espace. Ainsi, la définition donnée par Fairbridge (1980) élargit spatialement l'estuaire en y incluant une zone non affectée par les gradients de salinité, mais où l'influence dynamique des marées existe. Il propose une division de l'estuaire en trois zones : une zone marine (estuaire inférieur) en connexion avec l'océan ouvert, une zone intermédiaire (estuaire moyen) caractérisée par de forts gradients de salinité et d'importants mélanges, et une zone fluviale en eau douce (estuaire supérieur) sous influence de la marée dynamique. Les limites de ces zones sont variables dans le temps et l'espace pour un même estuaire, selon le débit du fleuve et la marée.

1.2. Classification

Les différents estuaires peuvent être classés en théorie en trois grands types selon s'ils sont stratifiés, partiellement mélangés ou bien mélangés. Cette classification repose sur la mesure de la salinité, qui constitue un paramètre facilement accessible et dont les variations ne sont dues à aucun terme réactif (la salinité est une grandeur conservative par excellence). En réalité, il est souvent difficile de classifier les estuaires selon ces trois grands types, car on est parfois confrontés à des situations intermédiaires et qui de plus peuvent évoluer d'un type à l'autre au cours du temps (Fairbridge, 1980). Le mélange de l'eau douce et de l'eau de mer est en effet assuré par deux éléments moteurs principaux qui sont variables dans le temps : les courants induits par les marées, et le débit du fleuve (Kjerfve, 1988).

1.3. Les échelles de temps caractéristiques d'un estuaire

Lorsque l'on étudie le comportement géochimique de composés dans un système estuarien, il est important de connaître les échelles de temps qui caractérisent ce système. On définira brièvement ci-dessous quelques unes de ces constantes (Helder et Ruardij, 1982 ; Martin *et al.*, 1986).

Le **temps de résidence** est défini comme le temps moyen mis par une parcelle d'eau ou un composé dissous pour parcourir une distance donnée. Lorsque cette distance couvre tout l'estuaire, on parle de **temps de transit** (Helder et Ruardij, 1982).

La notion de **temps de renouvellement** de la masse d'eau (= *flushing time*) est définie comme le rapport du volume d'eau douce dans l'estuaire sur le débit fluvial. A l'état stationnaire, et si l'on considère qu'il n'existe aucun apport d'eau douce en provenance de la partie marine de l'estuaire, cette valeur est égale au temps de résidence de l'eau douce dans l'estuaire (Martin *et al.*, 1986). Lorsque des variations rapides des apports en contaminants se produisent (en réponse à des événements de crue par exemple), elles accentuent l'état non-stationnaire du système estuarien : la notion de temps de renouvellement est alors différente de celle de temps de résidence (Martin *et al.*, 1986). Le temps de renouvellement peut être théoriquement facilement calculé en divisant le stock d'eau douce présent dans le système par le flux d'eau entrant dans ce système. Mais si les valeurs de débit peuvent être facilement obtenues, le volume d'eau de l'estuaire est beaucoup plus difficile à évaluer.

Aux différents types d'estuaires définis au § 1.1.2 sont associées des échelles de temps caractéristiques qui déterminent le comportement des éléments et composés en présence. Ainsi, dans les estuaires de type mélangé, qui sont caractérisés par des temps de résidence longs, l'impact des processus biogéochimiques est augmenté, par opposition au cas des estuaires stratifiés pour lesquels les temps de résidence sont plus réduits (Martin et Whitfield, 1983). Par ailleurs, dans chaque système estuarien, les constantes de temps varient avec le débit du fleuve.

1.4. L'estuaire : zone d'interfaces et de gradients

Les estuaires sont des zones d'interfaces et de gradients chimiques importants, où se mélangent deux masses d'eau de compositions et de forces ioniques très contrastées. De nombreux processus physiques, chimiques et biologiques interviennent au niveau des trois types d'interfaces : air / eau, eau / solides, et eau douce / eau salée. En particulier, l'interface entre l'eau douce et l'eau de mer est le siège d'interactions biogéochimiques importantes, notamment dans la zone des faibles salinités, qui constitue une zone d'accumulation de matériel organique (Morris *et al.*, 1978 ; Zutic et Legovic, 1987).

Les processus chimiques, biologiques et sédimentologiques qui sont mis en jeu dans la zone estuarienne sont complexes. Les estuaires constituent des systèmes thermodynamiquement ouverts : ils subissent des variations des flux entrants et sortants, et sont le siège de réactions chimiques continues, où l'état d'équilibre du système est rarement atteint (Martin et Brun-Cottan, 1988). Les systèmes estuariens présentent une hétérogénéité spatio-temporelle de leurs caractéristiques (Martin et Windom, 1991). L'étude du comportement des contaminants en milieu estuarien nécessite donc la prise en compte des paramètres physiques, chimiques et biologiques du système.

1.5. Comportement d'un composé au cours de la dilution estuarienne

L'évolution de la concentration d'une substance en fonction du temps dans un estuaire est dépendante des phénomènes physiques d'advection et de diffusion, des flux entrants et sortants de la substance dans le système, et d'un ensemble de réactions pouvant induire des changements de cette concentration (Wollast et Peters, 1983). Ces réactions chimiques, biologiques ou sédimentologiques peuvent entrainer un comportement du composé que l'on qualifie de non conservatif.

La dispersion spatiale d'une substance introduite ponctuellement en phase dissoute dans un cours d'eau s'effectue dans les trois dimensions. Les dispersions latérale et verticale étant réduites dans l'espace par les limites géographiques du système, la dispersion longitudinale est la plus importante. Kolpin et Kalkhoff (1992) ont montré que

l'étendue longitudinale de la dispersion d'un composé est d'autant plus importante que le débit du cours d'eau est faible.

Les variations des concentrations en contaminants au cours du mélange de deux masses d'eau dans un estuaire, l'une d'origine fluviale et l'autre d'origine marine, sont communément étudiées au moyen d'une représentation graphique où la concentration de la substance en phase dissoute est représentée en fonction d'une entité non réactive (i.e. conservative) qui doit être définie dans chacun des milieux considérés (Zimmerman et Rommets, 1974). La salinité est généralement choisie comme traceur du mélange de l'eau douce et de l'eau de mer. Lorsque la représentation suit une droite, le comportement de la substance est dit conservatif.

Notre démarche a donc consisté à suivre, dans le temps et l'espace, l'évolution des concentrations en herbicides au cours du mélange estuarien. Ce type d'approche permet d'accéder au calcul des flux bruts entrant dans l'estuaire et des flux nets arrivant à l'océan.

L'équation générale de dilution conservative d'un contaminant dissous le long d'un estuaire est de la forme :

 $Cx = [(Smer - Sx) / (Smer - S_0)] C_0 + [(Sx - S_0) / (Smer - S_0)] Cmer$

où Cx est la concentration du composé en phase dissoute à la salinité Sx en un point de l'estuaire, C_0 et S_0 les concentration et salinité mesurées au niveau de la référence fluviale, Cmer la concentration à la salinité Smer (Officer et Lynch, 1981). Lorsque S_0 et Cmer sont nulles, l'équation simplifiée est de la forme :

 $Cx = C_0 - [(C_0 / Smer)_x Sx]$

Tout écart à la droite de dilution théorique peut résulter de processus d'apport ou d'enlèvement du constituant à l'intérieur du système. Selon que les processus d'enlèvement ou d'apport se produisent sur toute la longueur de l'estuaire ou qu'ils sont limités dans l'espace, et selon leur cinétique, les courbes de dilution sont symétriques ou non (Martin *et al.*, 1988).

Les droites de dilution conservative ne sont interprétables que pour un système à l'état stationnaire (Boyle *et al.*, 1974). Or, comme on l'a précisé précédemment, l'état d'équilibre est rarement atteint au sein d'un estuaire. Les sources d'entrée des constituants dans l'estuaire, lorsqu'elles varient en quantité et dans le temps, entrainent des écarts aux droites de dilution théoriques. Selon la période, l'amplitude et la tendance des variations des concentrations, les courbes représentant les concentrations en fonction de la salinité sont affectées différemment (Loder et Reichard, 1981 ; Officer et Lynch, 1981 ; Kaul et Froelich, 1984). La figure 1.1 représente une situation de dilution

conservative à concentrations fluviale et marine constantes. A titre de comparaison, la figure 1.2 montre une situation simulée pour un composé dont la concentration diminue dans la partie fluviale de l'estuaire, selon une périodicité journalière s'ajoutant à une variabilité à long terme (50 jours). Dans le cas considéré, la période de variation à long terme est inférieure au temps de renouvellement de l'eau douce dans l'estuaire. Dans le cas de contaminants tels que les produits phytosanitaires, les variations des concentrations à court terme (quelques jours) peuvent être quantitativement importantes, notamment lors d'événements pluvieux. Les concentrations présentent également une variabilité à long terme (quelques mois) en raison de la saisonnalité de leur utilisation.

Ces considérations soulignent l'importance de connaître les variations temporelles des concentrations au niveau de la référence fluviale de l'estuaire, afin d'interpréter correctement les droites de dilution des composés dissous dans un estuaire.



Figure 1.1 : Droite de dilution observée lors du mélange conservatif d'un composé dissous dans un estuaire. Les concentrations au niveau de la référence fluviale et de la zone marine sont constantes.

Chapitre 1



Figure 1.2 : Courbe de dilution observée lors du mélange conservatif d'un composé dissous dans un estuaire, avec la concentration au niveau de la référence fluviale qui diminue selon une périodicité journalière, et de 50 jours.

(D'après Loder et Reichard, 1981.)

Enfin, on peut préciser que la mise en évidence du comportement conservatif d'un composé dissous dans un système estuarien ne signifie pas que cet élément soit chimiquement ou biologiquement inerte au sein du système. L'échelle de temps à laquelle on observe les phénomènes, comparativement à celle régissant l'hydrodynamique de l'estuaire, est fondamentale et doit être particulièrement prise en compte dans l'interprétation des résultats.

1.6. L'estuaire en tant que site intégrateur

La zone estuarienne, en tant que zone de jonction entre le milieu continental et le milieu marin, constitue un réceptacle pour de nombreuses substances d'origine allochtone. Ce réceptacle est dans la plupart des cas transitoire, à court ou long terme. Les substances naturelles ou d'origine anthropique en provenance du milieu continental sont apportées par les fleuves sous formes dissoute ou particulaire jusqu'au milieu estuarien, puis éventuellement transportées jusqu'à l'océan. Parmi ces substances figurent les pesticides, contaminants organiques d'origine exclusivement anthropique, qui ont fait l'objet de nos recherches.

Les zones estuariennes peuvent donc être considérées comme des systèmes intégrateurs des bassins versants des fleuves, et représentent pour cette raison des sites de choix pour identifier les composés issus du milieu continental. De plus, en raison des nombreuses réactions physico-chimiques pouvant s'y produire, les estuaires constituent des zones d'intérêt particulier pour l'étude des processus régissant le comportement des contaminants.

1.7. La connaissance des zones côtières : une nécessité

Les zones côtières constituent des milieux importants d'un point de vue économique et écologique : elles représentent les zones les plus productives de l'océan, et servent de nurseries à de nombreux organismes vivants. Le rôle des zones côtières en général et des zones estuariennes en particulier dans les cycles biogéochimiques des composés ou éléments a été mis en évidence par de nombreux auteurs (Martin et Windom, 1991).

Les données dont on dispose actuellement sur le comportement de contaminants organiques dans le milieu estuarien sont peu nombreuses. Toutefois, la compréhension des processus mis en jeu au niveau des estuaires est fondamentale pour estimer l'impact des composés sur la contamination de l'environnement aquatique, ainsi que pour évaluer leurs effets sur les organismes. Il apparaissait donc nécessaire de fournir des informations sur ce milieu, site récepteur de composés biocides tels que le sont les produits phytosanitaires. On cherche à déterminer si les zones estuariennes agissent en filtre, en piège, ou sont seulement des lieux de transit pour les substances rencontrées.

2. Les pesticides

2.1. Définition, utilisation

Les pesticides sont définis comme étant des substances destinées à lutter contre les parasites au sens large, c'est à dire en fait contre des organismes "indésirables". Ils regroupent des composés organiques et inorganiques à action plus ou moins spécifique, tels que herbicides, fongicides et insecticides, qui sont les trois plus importants types de produits utilisés. Certains composés peuvent avoir individuellement plusieurs types d'action.

En France, les pesticides sont utilisés principalement (à 90%) en agriculture (Collet, 1988). Ces substances sont alors également regroupées sous l'appellation de produits phytosanitaires. D'un point de vue économique, l'utilisation de pesticides apparaît

bénéfique : on estime qu'en l'absence de traitements, les pertes dues aux dégâts sur les cultures seraient quatre fois plus importantes (Collet, 1988). Les autres utilisations sont liées aux industries (bois, textiles, agro-alimentaires) ou aux traitements des zones urbaines (voies ferrées, routes, étangs).

L'emploi de pesticides en agriculture remonte à l'Antiquité. Jusqu'à la première moitié du 20ème siècle, ils regroupent des substances d'origine naturelle, essentiellement inorganiques. Dès la seconde guerre mondiale, on assiste à une augmentation de l'utilisation de pesticides organiques de synthèse. Entre 1945 et 1975, les quantités de pesticides utilisés aux Etats-Unis ont augmenté dix fois (Pimentel *et al.*, 1993).

L'utilisation de substances de synthèse telles que les pesticides pose des problèmes en matière de santé publique et de dommages sur les écosystèmes naturels. Aucun pesticide introduit dans l'environnement ne peut être à priori considéré comme étant inoffensif. Les préoccupations concernant les effets des pesticides ne sont apparues que récemment, avec l'augmentation du nombre des molécules synthétisées et l'extension de leur action à de très nombreux organismes. Faisant suite à l'utilisation massive de composés rémanents et ayant une action plus étendue que présumé initialement, la synthèse des molécules a été orientée vers des composés moins rémanents et moins bioaccumulables (Tronczynski, 1990) : les organophosphorés et les insecticides carbamates ont remplacé les organo-chlorés. L'utilisation de composés plus efficaces, c'est à dire plus toxiques vis-à-vis d'espèces ciblées, contribue également à diminuer des quantités utilisées. En contrepartie, les substances utilisées sont plus solubles dans l'eau, et de ce fait plus mobiles dans l'environnement.

Actuellement, la réduction de l'utilisation des pesticides devient une préoccupation majeure aux Etats-Unis, au Canada et en Europe. Des études menées en Europe ont montré qu'une réduction de 25% des quantités d'herbicides utilisés sur les cultures de céréales n'entraînerait pas de diminution des rendements (O'Sullivan et Bouw, 1993). Aux Etats-Unis, il a été montré qu'une réduction de 35 à 50% des quantités de pesticides utilisés serait envisageable sans réduire la production des cultures (Pimentel *et al.*, 1993). Des systèmes d'encapsulation (squelette d'amylose et d'amylopectine) de quelques herbicides ont été récemment mis au point et ont montré leur efficacité dans la réduction des quantités introduites dans le milieu aquatique (Mills et Thurman, 1994 a).

On compte de nos jours en France plus de 450 matières actives différentes disponibles sur le marché. Ces matières actives sont commercialisées sous différentes formes, et sont souvent associées au sein d'une même spécialité commerciale. Les pesticides agricoles font l'objet d'une réglementation au niveau national portant sur la distribution, leur utilisation et leur présence dans les denrées alimentaires (ACTA, 1994).
2.2. Coefficients de partage et de distribution d'un composé organique dans l'environnement

Les propriétés physico-chimiques d'une molécule organique (solubilité aqueuse, pression de vapeur, polarité, dégradabilité) déterminent en partie son mode de transport, son comportement et son devenir dans les différents compartiments de l'environnement (Marchand, 1985). Les coefficients de partage qui permettent d'évaluer certaines de ces propriétés sont rapidement définis ci-dessous (Sigg *et al.*, 1992).

Le caractère lipophile des composés est estimé par leur coefficient de partage entre le n-octanol et l'eau (K_{ow}) :

où [C]oct. est la concentration du composé dans le n-octanol et [C]eau celle du composé dans l'eau. Les valeurs du K_{OW} des composés non polaires sont inversement proportionnelles à la solubilité aqueuse des composés. Le K_{OW} est souvent corrélé à la bio-accumulation dans la chaîne alimentaire, qui est en effet dépendante de la solubilité des composés dans les lipides. La bio-accumulation est évaluée par le BCF ou facteur de bio-concentration, défini comme suit :

BCF = [C] matière vivante / [C] eau,

où [C] est la concentration du composé dans la matrice considérée.

L'adsorption d'un composé sur une particule est quant à lui défini par le coefficient de distribution Kd :

où [C] ads. est la concentration du composé en phase particulaire. L'adsorption est dépendante de la température, du pH, de la nature des particules et de leur contenu en matière organique, et des caractéristiques physico-chimiques du composé adsorbé. Dans le cas de molécules telles que les triazines, le processus d'adsorption est gouverné par des liaisons de Van der Waals, des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène (Reddy et Locke, 1994).

Le Kd des composés non polaires est généralement dépendant du contenu en matière organique des sols et sédiments (Means et Wijayaratne, 1982). On définit de ce fait le K_{oc}, coefficient de partage du composé entre la fraction de carbone organique du sol ou des matières en suspension (MES) et l'eau :

 $K_{OC} = Kd / f_{OC}$

où f_{OC} est la fraction (en masse) de carbone organique de la phase solide. Ce coefficient gouverne majoritairement la mobilité des composés dans l'environnement aquatique (Bottoni et Funari, 1992).

Le K_d et le K_{oc} sont dépendants de la solubilité en phase aqueuse des composés et de leur K_{ow} selon la relation :

$$Kd = b x f_{oc} x (K_{ow})^a$$
,

où a et b sont des constantes (Sigg et al., 1992).

2.3. Contamination de l'environnement par les pesticides

Selon la définition donnée par le GESAMP (Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution) dans le cas particulier de l'environnement marin, le terme de pollution désigne *l'introduction directe ou indirecte par l'homme de substances ou d'énergie dans le milieu marin lorsqu'elle a ou peut avoir des <u>effets nuisibles</u>. Le terme de polluant est donc associé à l'apparition dans le milieu d'effets délétères. C'est pourquoi nous parlerons des pesticides en terme de contaminants, car cette appellation n'implique pas forcément l'existence d'un effet.*

En raison de leur utilisation en quantités importantes et de leur mobilité, les résidus de pesticides¹ ont été retrouvés dans de nombreux compartiments de l'environnement (Fielding *et al.*, 1992, Strachan *et al.*, 1982) : l'atmosphère, les sols, les sédiments, la biomasse et le milieu aquatique.

La présence de divers composés a été mise en évidence dans l'atmosphère sous forme de poussières ou en phase vapeur (Richards *et al.*, 1987 ; Fielding *et al.*, 1992 ; Scharf *et al.*, 1992, Chevreuil et Garmouma, 1993). Les différentes voies d'entrée de pesticides dans l'atmosphère se produisent à partir des terres agricoles par volatilisation (particules ou aérosols) ou évaporation (gaz), ou directement par dispersion au cours de leur application. Selon le mode d'application et les conditions météorologiques (vent, température, humidité), les quantités ainsi dispersées peuvent être variables. Lors d'une application par pulvérisation, les pertes dans l'atmosphère peuvent atteindre 50% (Khan, 1977).

¹Le terme de "résidus de pesticides" s'applique aux substances retrouvées dans l'environnement après l'application des produits. Il regroupe les composés parents et leurs éventuels produits de transformation.

Les résidus de pesticides sont présents sous forme adsorbée dans les sols agricoles (Raju *et al.*, 1993), où leur rémanence après l'application peut atteindre plusieurs années (Capriel *et al.*, 1985).

Certains composés insecticides et fongicides, parce qu'ils sont utilisés à une période proche ou après la récolte, sont présents également dans les produits alimentaires (Schattenberg et Hsu, 1992).

La contamination du milieu aquatique par les pesticides a été mise en évidence à de nombreuses reprises. Elle fait l'objet du paragraphe suivant.

2.4. Cas particulier de l'environnement aquatique

L'utilisation des pesticides en agriculture est reconnue comme étant la source principale d'entrée de composés dans le milieu aquatique, sous forme de sources ponctuelles ou diffuses. Selon une estimation de l'US-EPA (Environmental Protection Agency), l'apport de pesticides sous forme de sources diffuses constitue la préoccupation majeure des problèmes de contamination du milieu aquatique en réponse aux activités liées à l'agriculture (Humenik *et al.*, 1987).

La présence de pesticides a été mise en évidence dans les différents compartiments du milieu aquatique continental. Divers composés ont été identifiés dans les lacs (Albanis *et al.*, 1986, Bacci *et al.*, 1989, Buser 1990), les eaux de surface (Wauchope, 1978) et de rivières (Brauch, 1993), les eaux souterraines (Ritter *et al.*, 1994) et les eaux potables (Fielding *et al.*, 1992). Une étude complète menée aux Etats-Unis sur la contamination des eaux souterraines (qui alimentent en grande partie les eaux destinées à la consommation humaine) par les pesticides a montré la présence de 39 composés, à des niveaux de concentrations variant de 0.1 à 5 μ g.l⁻¹ (Hallberg, 1989). Cette étude met en évidence également la présence de produits de dégradation des triazines (dé-éthylatrazine : DEA, dé-isopropylatrazine : DIA).

Il est aujourd'hui parfaitement clair que les pesticides ont la potentialité de contaminer l'environnement aquatique, à des teneurs variant notamment selon les caractéristiques physico-chimiques des molécules et les quantités utilisées. Les quantités de pesticides apportées au milieu aquatique sont dépendantes de la demi-vie des composés dans les sols, et de leur affinité vis-à-vis de la phase particulaire. Ainsi, Wu et al. (1983) ont montré que l'alachlor, utilisé en quantités supérieures à celles de l'atrazine, est présent en quantités moindres dans les sols (Pereira et Hostettler, 1993), et de la plus grande affinité de l'alachlor pour la phase solide. Pour certains composés persistants, ou appliqués sous forme de poudres, les pertes dans les eaux de

ruissellement peuvent atteindre 5% (Wauchope, 1978). Des facteurs tels que la couverture végétale, les pratiques agricoles et la pente du terrain influent également sur la quantité d'herbicide lessivé (Sigua *et al.*, 1993, Triplett *et al.*, 1978).

Le nombre important de composés disponibles sur le marché conduit à établir des critères de choix permettant de déterminer des listes de produits présentant des risques de contamination de l'environnement, et donc devant faire l'objet d'études particulières. Une liste de 39 composés prioritaires (*black list*) pour la qualité de l'environnement aquatique a ainsi été crée à l'échelle européenne (directive 76/464/EEC). La sélection des composés y est faite selon leur utilisation, leur persistance et leur toxicité. La liste de ces composés figure en annexe 1. Dans cette liste figurent deux chloro-triazines, l'atrazine et la simazine. D'autre part, les directives européennes fixent une concentration maximale admissible pour les eaux de consommation humaine, qui est de 0.1 µg.l⁻¹ pour les pesticides pris individuellement, et 0.5 µg.l⁻¹ pour l'ensemble des composés.

Au niveau national, une liste de 30 substances actives phytosanitaires prioritaires pour la surveillance de la qualité des eaux superficielles a été établie par le Comité de liaison "eau-produits antiparasitaires" des ministères de l'agriculture, de l'environnement et de la santé. Ce comité, créé en 1992, a établi une liste de produits en fonction de critères concernant leur possibilité de présence dans le mileu aquatique et leurs effets toxicologiques sur l'homme et écotoxicologiques sur les organismes aquatiques. Cette liste comporte en majorité des herbicides parmi lesquels la simazine et l'atrazine (annexe 1).

Bien qu'un rapport établi récemment par la communauté européenne souligne l'importance d'étudier certains produits de transformation des pesticides (Fielding *et al.*, 1992), les différentes listes ne mentionnent généralement pas ces produits. Toutefois, aux Etats-Unis, l'agence pour la protection de l'environnement a engagé un programme national de surveillance des pesticides (NPS : National Pesticide Survey) dans les réservoirs d'eau potable, qui incluait 127 composés, dont 101 pesticides et 25 produits de transformation des pesticides (Barcelo, 1993).

2.5. L'importance quantitative des herbicides

Les herbicides, destinés à la lutte contre les mauvaises herbes, constituent plus d'un tiers (36%) du tonnage total annuel des pesticides utilisés en France (100 000 tonnes en 1988), soit environ 36 000 tonnes (Collet, 1988). A titre de comparaison, environ 50 000 tonnes de fongicides inorganiques et organiques, et 7 000 tonnes de produits insecticides sont utilisés annuellement. Les herbicides regroupent des substances appartenant à diverses familles dont les molécules présentent des caractéristiques

physico-chimiques proches. En France, les trois plus importantes quantitativement sont les triazines, les aryloxyacides et les urées substituées (Collet, 1988).

Aux Etats-Unis, selon une estimation du NRC (National Research Council), les herbicides constituent aujourd'hui 66% des pesticides utilisés en agriculture (Newman, 1993). L'utilisation d'herbicides aux Etats-Unis s'est accrue de 280% entre 1966 et 1981 alors que celle des insecticides n'a augmenté que de quelques pour-cent (Richards *et al.*, 1987). Selon Sherma (1993), les herbicides représentent entre 70% et 80% du total des pesticides utilisés dans les pays industrialisés.

Les herbicides possèdent des propriétés physico-chimiques leur permettant de pénétrer dans les plantes par diffusion passive ou prélèvement actif, par les feuilles ou les racines. Ils peuvent agir par contact, par inhibition de la mitose ou de la photosynthèse (triazines). Ils sont appliqués à des taux variables, à différents stades de développement de la plante cultivée (pré-plantation, pré-ou post-émergence).

3. Etude particulière d'une famille d'herbicides : les triazines

3.1. Structure, propriétés physico-chimiques, mode d'action

Les propriétés herbicides des triazines ont été reportées dès 1952 (Esser *et al.*, 1975 ; Smith *et al.*, 1982) ; leur action sélective fut démontrée en 1955 avec l'utilisation de la chlorazine en Amérique du Nord (McEwen et Stephenson, 1979). Il est estimé aujourd'hui que les triazines, et l'atrazine en particulier, sont les principaux facteurs ayant augmenté la production de maïs aux Etats-Unis dès les années 1960. L'atrazine, apparue dès 1958, est aujourd'hui la triazine la plus utilisée mondialement. Son usage est toutefois interdit ou limité dans plusieurs pays d'Europe (Allemagne, Italie).

Au niveau moléculaire, les triazines présentent un squelette de base constitué d'un hétérocycle à trois atomes d'azote (en positions 1, 3, 5), qui porte en C₄ et C₆ un groupe amine substitué (figure 1.3). Le carbone C₂ porte un atome de chlore, un groupe O-CH3 ou S-CH3, définissant ainsi l'appartenance aux groupes des chloro-, méthoxy- et méthylthio-triazines respectivement. Les substituants en C₂ déterminent l'activité phytocide des produits, alors que les carbones C₄ et C₆ déterminent leur sélectivité.

A titre d'exemple, les structures moléculaires de quelques triazines sont fournies en annexe 1.

19



Figure 1.3 : Structure moléculaire de base des triazines (1, 3, 5 s-triazines).

Le caractère basique de ces composés croit en fonction de la capacité du substituant en C_2 à céder des électrons ; leur pKa est compris entre 1.7 (chloro-triazines) et 4.3 (méthoxy-triazines). Dans les conditions naturelles, ils seront donc présents en majorité sous forme non ionique.

Les triazines présentent des solubilités aqueuses comprises entre quelques mg.I⁻¹ pour les chloro-triazines et quelques centaines de mg.I⁻¹ pour les méthoxy-triazines. Les solubilités de l'atrazine et la simazine sont respectivement de 33 mg.I⁻¹ et 5 mg.I⁻¹ à 25°C. Leurs pressions de vapeur étant faibles (3.10⁻⁷ mm Hg à 20°C pour l'atrazine), ce sont des composés peu volatils.

Les herbicides de la famille des triazines sont principalement utilisés sur les cultures céréalières ; leurs taux d'application varient de 0.25 à 60 kg.ha⁻¹ (Smith *et al.*, 1982). La simazine et la terbutryne sont également utilisées en milieu aquatique. Les triazines pénètrent dans les végétaux terrestres par les racines, et circulent jusqu'aux feuilles par le xylème. La pénétration des herbicides dans les cellules s'effectue dans la plupart des cas par diffusion passive (Sterling, 1994), l'équilibre étant atteint entre 10 et 30 minutes pour l'atrazine. En milieu aqueux, l'entrée des herbicides dans les organismes peut être ralentie lorsque les composés se lient au film organique présent en surface des feuilles (Kemp *et al.*, 1985). Les composés agissent ensuite au niveau des chloroplastes, en se liant à une protéine de la membrane des thylacoïdes, et inhibent la photosynthèse par blocage de la réaction de Hill. Les voies métaboliques et les cinétiques de dégradation des triazines dans les plantes déterminent la résistance des espèces aux composés.

La pénétration des composés dans les plantes a lieu non sélectivement. Elle dépend de la solubilité aqueuse des molécules : les composés les moins polaires pénétrent mieux la bicouche lipidique des membranes. Ainsi, les produits de dégradation des triazines, de par leur caractère plus polaire, ont un pouvoir d'inhibition plus faible. Jones et Winchell (1984) ont par exemple montré qu'une concentration en DEA de 500 µg.l⁻¹ entraînait une

inhibition de 40% de la photosynthèse sur une espèce de végétaux vasculaires, alors que la même concentration en atrazine inhibait 85% de la photosynthèse.

Les triazines s'accumulent peu dans la biomasse : leurs BCF sont compris entre 0 et 184 (Tronczynski, 1990). A titre de comparaison, des composés bio-accumulables tels que les organo-chlorés présentent des BCF compris entre 220 et 84500. Le coefficient de partage octanol / eau (K_{OW}) de l'atrazine est compris entre 224 et 3468 (Trotter *et al.*, 1990). Le Kd de l'atrazine diminue lorsque la température et le pH augmentent ; il est plus élevé lorsque le contenu en matière organique est plus important (Trotter *et al.*, 1990). Les valeurs du K_{OC} de l'atrazine dans les sédiments et MES sont faibles ; l'atrazine est donc peu présente sous forme adsorbée aux MES. Squillace et Thurman (1992) ont estimé à environ 99% la part d'atrazine transportée en phase dissoute dans le milieu aquatique. Après érosion des sols, l'équilibre d'adsorption-désorption entre les phases dissoute et particulaire est atteint rapidement en milieu aquatique : 75% de la désorption en 3 à 6 minutes (Squillace et Thurman, 1992).

Les propriétés physico-chimiques des deux chloro-triazines les plus largement utilisées, l'atrazine et la simazine, et de leurs produits de dégradation sont présentées dans le tableau 1.1.

COMPOSE	MM	Ws (mg.l ⁻¹) à 22-25°C	P°vap. (mmHg) à 20°C	log K _{ow}	K _d	log K _{oc}	BCF	pKa à 21°C
Atrazine	216	33	3.10-7	2.35-3.54 2.5 ⁽⁵⁾ 2.21-2.75 ⁽¹⁰⁾	1.1 ⁽⁶⁾ 0.44-14 ⁽⁷⁾	2.1-3.2 2.17 ⁽²⁾ 2.23 ⁽¹⁾ 1.65-2.41 ^(3,4)	0-11 ⁽⁹⁾	1.7
Simazine	202	5	6.10-9	2.2 ⁽⁹⁾ 1.51-2.26 ⁽¹⁰⁾		2.13 (2)	0-305 (9)	1.7
DEA	188	3200 (6)		1.51-1.53 (10)	0.4 ⁽⁶⁾ 0.24-6.5 ⁽⁷⁾	1.709 (2)		1.3 (8)
DIA	174	670 ⁽⁶⁾		1.12-1.15 (10)	0.3 ⁽⁶⁾ 0.41-8.6 ⁽⁷⁾	1.854 (2)		1.3 (8)
HA	198			0.8 (5)	1.7-82(7)	2.645 (2)		4.9 (8)

Tableau 1.1 : Propriétés physico-chimiques de deux chloro-triazines largement utilisées : la simazine et l'atrazine, et de leurs produits de dégradation. (MM : Masse Moléculaire, Ws : Solubilité aqueuse, P° vap. : Pression vapeur)

Les données sont extraites de :

Chau S.Y. et Afghan B.K., 1982. Analysis of pesticides in water, Vol.III, CRC Press, et des références suivantes :

1. Means *et al.* (1983), 2. Reddy et Locke (1994), 3. Squillace et Thurman (1992), 4. Squillace *et al.* (1993), 5. Sterling (1994), 6. Mills et Thurman (1994 a), 7. Brouwer *et al.* (1990), 8. Coquart *et al.* (1993), 9. Tronczynski (1990), 10. Noble (1993).

3.2. Transformations dans l'environnement

On entend par transformation tout processus qui conduit à un changement de la structure moléculaire d'un composé (Somasundaram et Coats, 1991). Les phénomènes de transformation des triazines dans les divers compartiments de l'environnement incluent des processus de biodégradation et de dégradations abiotiques.

Les processus de dégradations chimiques ou biologiques des triazines se produisent essentiellement dans les plantes ou les sols. Ils affectent les substituants en C_4 et/ou C_6 (déalkylations, oxydations des chaînes alkylées, déaminations), le carbone en C_2 (hydroxylation, conjugaisons avec des acides aminés) ou l'hétérocycle (coupure). La coupure du cycle par voie biologique intervient en phase finale de dégradation. Les processus de dégradation conduisent généralement à la formation de composés plus solubles dans l'eau, donc plus mobiles que les composés parents (Esser *et al.*, 1975).

La formation de dérivés hydroxylés et les mécanismes de conjugaison conduisent à une perte des propriétés phytocides ; les plantes mettant en jeu rapidement ce type de dégradation sont par conséquent résistantes. Dans les sols, l'hydroxylation se produit essentiellement par voie non biologique (Adams et Thurman, 1991). Elle est favorisée par la présence d'acides fulviques en solution (Khan, 1980). Les composés hydroxylés peuvent s'adsorber fortement dans les sols, leur rémanence peut donc y être élevée. On les retrouvera par conséquent peu dans le milieu aquatique.

Les processus de déalkylation interviennent dans les sols surtout par voie microbiologique, sous l'action de bactéries ou de champignons (Adams et Thurman, 1991). L'activité herbicide étant donnée par le substituant en C_2 , les produits déalkylés DEA et DIA conservent les propriétés phytocides de l'atrazine (Winkelmann et Klaine, 1991). Les déalkylations affectent en priorité les chaînes alkylées les plus courtes et les moins ramifiées. Ainsi, la déalkylation de l'atrazine en dé-éthylatrazine (DEA) est plus rapide que sa déalkylation en dé-isopropylatrazine (DIA) (Mills et Thurman, 1994 b).

Les données de la littérature sur la demi-vie de l'atrazine dans les sols agricoles montrent une grande variabilité (entre 37 jours et 3 à 5 ans), dépendant de la composition du sol (argiles ou sable, teneur en matière organique) et de paramètres physicochimiques tels que humidité, T°, et pH (Jones *et al.*, 1982). Stevenson *et al.* (1982) indique des valeurs comprises entre 1.5 et 6 mois.

Dans les eaux de surface, les mécanismes de photo-dégradation des triazines sont lents : ils ne sont donc pas prépondérants dans l'enlèvement des composés du milieu aquatique. Toutefois, Kolpin et Kalkhoff (1993) ont mis en évidence l'existence d'une corrélation significative entre la demi-vie de l'atrazine dans une rivière et la durée d'ensoleillement, suggérant qu'une dégradation photolytique puisse intervenir dans les eaux. La photolyse de l'atrazine conduit à la formation d'hydroxyatrazine, et également à la formation de dérivés déalkylés en présence d'acides fulviques qui agissent comme photo-sensibilisateurs (Khan, 1980).

3.3. Niveaux de présence dans les eaux continentales

Les triazines sont présentes dans les divers compartiments aquatiques du milieu continental, à des teneurs variant de l'ordre du mg.l⁻¹ (eaux de surface ou eaux souterraines proches des zones cultivées) au ng.l⁻¹ dans les eaux souterraines éloignées des zones agricoles (Bester et Huhnerfuss, 1993).

Dans les eaux de surface collectées au niveau de onze bassins versants agricoles en Ontario (Can.), les concentrations moyennes en simazine (valeur moyenne maximale : $0.04 \ \mu g.l^{-1}$) et atrazine (valeur moyenne maximale : $5.5 \ \mu g.l^{-1}$) sont de $0.02 \ \mu g.l^{-1}$ et 1.1 $\mu g.l^{-1}$ respectivement (Frank *et al.*, 1982). Selon Wauchope (1978), les maxima de concentration totale (eau + MES) dans les eaux de ruissellement de terres agricoles atteignent 300 $\mu g.l^{-1}$ pour la simazine, et entre 37 et 4700 $\mu g.l^{-1}$ pour l'atrazine.

Dans les eaux souterraines, (Fielding *et al.*, 1992) les teneurs en atrazine varient entre 0.01 et 7.8 μ g.l⁻¹, et entre 0.02 et 0.42 μ g.l⁻¹ pour la simazine. Au niveau d'une zone de production importante de maïs, les résidus d'atrazine dans les eaux souterraines ont été détectés à des teneurs parfois supérieures aux normes européennes concernant les eaux potables (concentrations en atrazine variant de 0.49 à 3.89 μ g.l⁻¹ selon l'étude de Pick *et al.*, 1992).

3.4. Techniques analytiques : état actuel des connaissances et orientations

Le choix d'une méthode analytique est dicté par la nature des produits ciblés, la gamme des composés recherchés pouvant être plus ou moins étendue.

Dans le cas des triazines dissoutes, de nombreuses techniques analytiques ont prouvé leur efficacité, et de nombreuses synthèses bibliographiques traitent le sujet (Barcelo, 1993 ; Sherma, 1993 ; Tronczynski, 1993). Le choix repose essentiellement sur les techniques d'extraction et de détection finale. La méthode d'isolement des triazines en phase dissoute la plus largement utilisée fut dans un premier temps l'extraction liquideliquide au dichlorométhane (Smith *et al.*, 1982 ; Lee et Stokker, 1986 ; Steinheimer et Brooks, 1984). L'extraction liquide-solide s'est ensuite développée en raison des avantages techniques qu'elle offre par rapport à l'ELL et de la diversité de supports solides disponibles (phases greffées C_8 , C_{18} , polymères poreux). L'utilisation conjointe de phases solides de compositions différentes permet l'analyse simultanée de nombreux composés (méthodes "multi-résidus, Benfenati *et al.*, 1990). Les techniques

d'identification et de quantification utilisent la chromatographie en phase gazeuse ou liquide, couplées à la spectrométrie de masse ou à des détecteurs sélectifs (NPD-Nitrogen Phosphorus Detector) ou peu sélectifs (UV).

L'évolution générale actuelle des techniques analytiques s'oriente vers l'automatisation et le développement de procédures en ligne (Hennion *et al.*, 1990 ; Brouwer *et al.*, 1992 ; Slobodnik *et al.*, 1992 ; Bulterman *et al.*, 1993). Ces développements impliquent l'utilisation de techniques d'extraction sur phases solides couplées généralement à la chromatographie en phase liquide, et le traitement d'échantillons de petits volumes. Toutefois, une technique d'extraction liquide-solide en ligne avec la chromatographie en phase gazeuse couplée à différents détecteurs a été récemment mise au point, permettant la quantification de triazines à l'état de traces à partir de 10 ml d'eaux de surface (Pico *et al.*, 1994).

Les techniques d'immuno-détection apparaissent progressivement dans la littérature (Thurman *et al.*, 1990, 1992). Elles permettent d'effectuer rapidement une détection étendue des composés, et peuvent donc être utilisées dans les études de surveillance de la qualité des eaux. Leurs limites d'application sont comprises entre 0.2 et 2 μ g.l⁻¹. Une méthode a été récemment mise au point pour la détection des produits déalkylés de l'atrazine (Wittman et Hock, 1993).

Notre choix s'est orienté vers des méthodes d'extraction multi-résidus, et des systèmes de détection sélectifs dont le seuil de sensibilité puisse être compatible avec les niveaux de présence des composés dans le milieu marin. Notre objectif a notamment été de valider une méthode permettant la détection simultanée des produits de dégradation des chloro-triazines et des composés parents. Les méthodes analytiques ainsi mises au point et utilisées en routine au laboratoire seront détaillées dans le chapitre 2.

4. Les produits phytosanitaires en zone estuarienne

4.1. Transport vers les zones côtières

Si les résultats dont on dispose sur la présence des triazines en milieu aquatique continental sont nombreux, les études menées en milieu estuarien et marin côtier sont bien moins répandues. Plusieurs raisons viennent expliquer ce constat. La première tient au fait que l'idée d'une contamination du milieu marin par les herbicides n'a pas été envisagée au début de leur utilisation. L'ampleur de la présence de ces composés aux niveaux spatial et temporel n'a été clairement démontrée que récemment, et seulement en milieu aquatique continental. Ces études ont mis en évidence leur persistance dans l'environnement et leur apport essentiellement sous forme de sources diffuses. D'autre

part, les études menées en milieux estuarien et marin sont exigentes au niveau de la stratégie d'échantillonnage et des techniques analytiques.

Le transport des produits phytosanitaires jusqu'en zone estuarienne et marine côtière est fonction de leur mobilité et de leur persistance dans les sols. En raison de leurs propriétés physico-chimiques, les triazines constituent de bons candidats au transport vers les zones estuariennes. La figure 1.4 récapitule les différentes sources et les modes de transport des produits phytosanitaires des zones d'épandage vers le milieu aquatique côtier.

La micro-couche de surface (<1 mm) des eaux estuariennes est une zone d'accumulation préférentielle d'éléments et de composés organiques hydrophobes (Wu *et al.*, 1980). Le transport des contaminants peut alors s'effectuer de la couche de surface des eaux estuariennes vers l'atmosphère (Wu, 1981). Selon la composition en matière organique de cette couche de surface, un enrichissement en atrazine peut être observé ou non (Kucklick et Bidleman, 1994 ; Wu, 1981).

Les quantités d'herbicides parvenant au milieu estuarien comparativement aux quantités appliquées sur les terres agricoles ont été estimées par plusieurs auteurs. Au niveau du golfe du Mexique, qui recoit les apports du bassin du Mississippi, Pereira et Hostettler (1993) ont estimé que pour l'atrazine, ces quantités étaient voisines de 0.8%. Selon les conditions hydrologiques, elles peuvent varier entre 0.4 et 1.7% (Pereira et Rostad, 1990) : en année de sécheresse, 105 tonnes d'atrazine étaient déchargées dans le golfe du Mexique, soit 0.4% des quantités appliquées sur le bassin versant, alors qu'au cours d'une année plutôt humide, 1.7% (soit 429 tonnes) des quantités utilisées atteignaient les eaux du golfe. Wu et al. (1983) ont estimé les pertes en atrazine entre 0.05 et 2 % sur le bassin versant du Rhode (Maryland, EU). Frank et Sirons (1979 b) ont estimé ces quantités entre 0.3 et 1.9% selon le type de sol considéré, les pertes étant plus importantes pour les sols argileux que pour les sols sableux plus perméables. Lors de leur étude sur des bassins versants agricoles en Ohio (EU), Triplett et al. (1978) montrent que les quantités maximales d'atrazine transportées dans les eaux de ruissellement s'élèvent à 5.7% des quantités appliquées. Une étude préliminaire menée en France a estimé que 0.4% de la quantité d'atrazine utilisée annuellement arrivait par le Rhône en Méditerranée (Tronczynski et al., 1993 a).

25



Figure 1.4 : Modes de transport des pesticides des zones d'épandage vers les eaux estuariennes.

26

4.2. Comportement au cours de la dilution estuarienne

Le transport et le comportement des herbicides au niveau estuarien et marin côtier ont fait l'objet de quelques études, initialement aux Etats-Unis. Certains auteurs ont mis en évidence que le comportement de l'atrazine au cours du mélange estuarien (Baie de Chesapeake, EU) était de type non conservatif (Stevenson *et al.* 1982 ; Means *et al.*, 1983). L'enlèvement observé par rapport à la courbe de dilution théorique était attribué à un phénomène de bio-dégradation rapide se produisant dans les eaux sous l'action de bactéries ou de champignons.

A l'opposé, Glotfelty *et al.* (1984) ont montré sur la rivière Wye (Baie de Chesapeake) que les variations spatiales des concentrations en atrazine jusqu'à un niveau de salinité égal à 15, dépendaient essentiellement de la dilution des eaux de la rivière avec celles de l'estuaire, suggérant un comportement de type conservatif. Kucklick et Bidleman (1994) reportent le même type de comportement dans l'estuaire de la baie de Winyah en Caroline du Sud (EU).

Ces études ont par ailleurs montré que l'adsorption par les colloïdes était un processus jouant un rôle important dans les mécanismes de transport de l'atrazine vers les zones côtières (Means *et al.*, 1983). Ces auteurs ont montré que les coefficients de partage entre l'atrazine et la matière organique colloïdale étaient en effet 10 à 35 fois plus élevés que dans le cas de la matière organique des sols ou des sédiments (Means et Wijayaratne, 1982).

4.3. Cinétiques de dégradation en milieu estuarien

Les données de la littérature indiquent que la dégradation de l'atrazine dans les systèmes estuariens (eau et sédiments) est beaucoup plus rapide que dans les sols, probablement en raison de la plus grande diversité des micro-organismes existant en milieu estuarien (Means *et al.*, 1983). A titre d'exemple, la demi-vie de l'atrazine dans les sédiments estuariens de la Baie de Chesapeake (EU) est de 15 à 20 jours, alors qu'elle est comprise entre 330 et 385 jours dans les sols agricoles prélevés sur le bassin versant de la Baie (Jones *et al.*, 1982). Dans les eaux estuariennes, ces auteurs reportent des valeurs de demi-vie de la totalité des résidus de l'atrazine (atrazine + produits déalkylés + hydroxyatrazine) de 6 jours et 17 jours pour des eaux de salinités égales à 15 et 8 respectivement, et de 3 à 12 jours pour l'atrazine seule (ces valeurs incluent les processus de dégradation et de sorption). Les variations de salinité ne semblent cependant pas avoir d'influence sur la dégradation de l'atrazine (Hall *et al.*, 1994). Ballantine *et al.* (1978) ont estimé la demi-vie de l'atrazine en eau estuarienne à 30 jours, et de la totalité des résidus à 75 jours. Les différences obtenues entre les deux études étaient dues aux rapports eau / sédiments, moins importants dans l'étude de Jones *et al.*.

Les processus de dégradation se produisent en effet essentiellement en phase adsorbée, les produits dégradés étant désorbés par la suite (modèle adsorption-dégradation-désorption, Jones *et al.*, 1982).

Nous verrons cependant que les résultats obtenus au cours de notre étude démontrent clairement que la dégradation des triazines en milieu estuarien n'est pas rapide.

4.4. Niveaux de présence dans les eaux côtières Européennes

La majorité des données dont on dispose actuellement concernant la présence et les niveaux de concentration des herbicides dans les eaux estuariennes et marines côtières Européennes provient des travaux entrepris à l'IFREMER depuis 1990. Une partie importante de ces données sera présentée dans le cadre de la présente étude ; les niveaux de concentration en herbicides seront donc détaillés au cours des chapitres suivants. Les données obtenues au laboratoire sont quantitativement importantes, puisqu'elles couvrent les trois façades maritimes des côtes françaises (Tronczynski *et al.*, 1993 b ; Munschy *et al.*, 1993 ; Tronczynski *et al.*, 1994 ; Tronczynski *et al.*, 1995).

Les quelques études précédemment entreprises au niveau Européen ne constituent que des données très ponctuelles. Dans les zones côtières de Mer du Nord, la présence de trois chloro-triazines, atrazine, simazine et terbuthylazine, a été identifiée à des concentrations variant entre 1 et 1100 ng.l⁻¹ (Bester et Huhnerfuss, 1993). Dans les eaux estuariennes et marines côtières du Royaume-Uni, la simazine et l'atrazine sont identifiées à des concentrations inférieures à 10 ng.l⁻¹ en zone marine (Ahel *et al.*, 1992 ; Law *et al.*, 1994 ; Gough *et al.*, 1994). En Méditerranée, les herbicides ayant été principalement identifiés dans les eaux côtières sont l'atrazine, la simazine, l'alachlor, le metolachlor et le molinate, à des teneurs variant de 800 ng.l⁻¹ à moins de 1 ng.l⁻¹ (Readman *et al.*, 1993 a). Au niveau du delta du Rhône, les deux chlorotriazines atrazine et simazine ont été identifiées jusque dans des eaux de salinité 10, à 17 ng.l⁻¹ et 10 ng.l⁻¹ respectivement (Tronczynski *et al.*, 1993 a). Récemment, une méthylthio-triazine utilisée comme agent anti-salissure a été détectée au niveau de ports de plaisance (Readman *et al.*, 1993 b ; Gough *et al.*, 1994).

4.5. Toxicité vis-à-vis des organismes aquatiques estuariens et marins

Les effets directs des triazines, du fait de leur mode d'action par inhibition de la photosynthèse, sont susceptibles d'intervenir essentiellement sur les organismes végétaux. Toutefois, une étude récente (Hall *et al.*, 1994) a montré que l'atrazine possédait également une toxicité aigüe vis-à-vis des larves d'un copépode et d'un

poisson, à des concentrations minimales de 0.5 mg.l⁻¹ et 2 mg.l⁻¹ respectivement (LC50-96h). Cette étude a également mis en évidence l'existence d'une influence (positive ou négative) de la salinité sur la toxicité.

Dans l'environnement estuarien, deux catégories de plantes sont affectées par la présence d'herbicides : les algues et les végétaux aquatiques submergés. Les effets se traduisent généralement par une inhibition de la photosynthèse. Cependant, à des niveaux de concentration de 75 μ g.l⁻¹ et 5 μ g.l⁻¹, un effet de stimulation a été observé (Correl et Wu, 1982 et Kemp *et al.*, 1985 respectivement).

La sensibilité des algues à l'atrazine diffère selon les espèces considérées entre moins de 100 μ g.l⁻¹ et plus de 1 mg.l⁻¹ (Stevenson *et al.*, 1982). Les concentrations effectives de l'atrazine sur la diminution de 50% de la synthèse d'oxygène d'algues marines unicellulaires varient entre 60 et 460 μ g.l-1 (Hollister et Walsh, 1973). Selon l'étude de DeNoyelles *et al.* (1982), des concentrations de 1 à 5 μ g.l⁻¹ ont un effet sur la photosynthèse du phytoplancton. Par suite, des effets indirects peuvent affecter les populations de consommateurs, suite à une diminution de la biomasse algale, ou à un développement monospécifique.

Les végétaux aquatiques submergés ont fait l'objet de plusieurs études de sensibilité vis-à-vis des herbicides, en raison des diminutions de populations observées aux Etats-Unis en baie de Chesapeake (Forney et Davis, 1981). La présence d'herbicides issus des activités agricoles a été en effet dans un premier temps évoquée comme une des causes de ces diminutions. Jones et Winchell (1984) ont déterminé que les concentrations entraînant une inhibition de 50% de la photosynthèse sont en moyenne de 95 µg.l⁻¹ pour les quatre espèces de macrophytes étudiées. Correl et Wu (1982) montrent qu'une exposition à 12 µg.l⁻¹ d'atrazine cause 50% de mortalité chez une espèce de plante vasculaire (*Vallisneria*) après 47 jours, et que des niveaux de concentration de 1.3 µg.l⁻¹ n'entraînent aucun effet détectable.

Les expériences de toxicité en laboratoire sont bien souvent réalisées sur une seule espèce, et un seul composé. Elles donnent une première indication de la toxicité des composés, et de leurs effets à court terme. Elles ne sauraient refléter les conditions environnementales dans lesquelles plusieurs espèces subissent l'influence d'une pléthore de contaminants, pouvant entraîner des effets synergétiques ou antagonistes. Ainsi, l'existence d'effets synergétiques de l'atrazine et l'alachlor a été rapportée par Akobundu *et al.* (1975) sur le millet. Par ailleurs, les expériences en laboratoire peuvent induire des biais dans les résultats : selon l'étude de Plumley et Davis (1980), les effets de l'atrazine sur les algues seraient moins importants *in situ* que dans les cultures et micro-écosystèmes recréés. Il importe également de considérer les effets à long terme, non seulement sur les individus, mais aussi sur les populations puis les écosystèmes, en

réponse à une exposition continue. Correl et Wu (1982) soulignent que les effets de faibles concentrations en particulier doivent être suivis après une exposition longue (30-40 jours).

Dans son étude bibliographique, Huber (1993) indique que les effets irréversibles de l'atrazine sur les écosystèmes n'interviennent pas en deça de niveaux de concentration inférieurs à 20 µg.l⁻¹. Au Canada, une norme a été établie pour l'atrazine en vue de protéger la qualité de l'eau: le niveau de présence déterminé pour la protection de la vie aquatique (algues et plantes vasculaires) est de 2 µg.l⁻¹ (Trotter *et al.*, 1990).

Bodo (1991) souligne par ailleurs l'importance de prendre en compte les concentrations cumulées en atrazine et dé-éthylatrazine dans les études d'impact de l'atrazine sur les organismes vivants, car la DEA possède également des propriétés phytocides.

4.6. Besoins en recherche

La compréhension du comportement géochimique des composés organiques dans les zones côtières est essentielle car elle permet d'évaluer leur mode de transport, leur dispersion et leur devenir dans l'environnement, ainsi que d'estimer les flux de ces contaminants entrant en milieu estuarien (flux nets) et en milieu marin (flux bruts).

Ces informations présentent un intérêt majeur aussi bien pour appréhender la modélisation ultérieure du comportement géochimique de ces composés, que pour la gestion et la protection de l'environnement côtier, ainsi que pour évaluer leur impact sur les organismes ou les écosystèmes.

Le manque de données et la problématique liée à l'utilisation de composés biocides tels que les herbicides dans l'environnement motivent également le développement de programmes de recherches dans ce domaine. Le comportement des herbicides au niveau des zones estuariennes et marines côtières nécessitait donc d'être étudié de façon approfondie.

Les études portant sur des contaminants organiques présents à l'état de trace dans l'environnement nécessitent la mise en place de stratégies d'échantillonnage adaptées, et le développement de protocoles analytiques performants. Nous nous sommes donc dans un premier temps attachés à étudier ces aspects, en appliquant toujours nos méthodes aux échantillons naturels.

Le comportement géochimique des herbicides et de leurs produits de dégradation a été ensuite étudié en milieu estuarien et marin côtier. Selon les systèmes estuariens considérés et selon les saisons, différents processus peuvent intervenir de façon majoritaire. Nos études ont par conséquent porté sur plusieurs systèmes estuariens, à différentes périodes de l'année.

E

L'ANALYSE DE COMPOSES HERBICIDES A L'ETAT DE TRACES DANS LES ECHANTILLONS NATURELS

1. Stratégies d'échantillonnage	34
2. Protocoles d'analyse d'échantillons naturels	37
3. Etude de l'influence du stockage prolongé d'échantillons d'eau filtrée 5	51
4. L'extraction des herbicides en phase dissoute	54
5. Mise au point d'une méthode de purification et séparation	75
6. Séparation des composés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à haute résolution	79
7. Etude des caractéristiques du détecteur NPD	90
8. Conclusions	01



L'ANALYSE DE COMPOSES HERBICIDES A L'ETAT DE TRACES DANS LES ECHANTILLONS NATURELS Stratégies d'étude et développements méthodologiques

Résumé

L'étude de contaminants organiques au sein d'échantillons naturels estuariens implique avant toute étape analytique la mise en place d'une stratégie d'échantillonnage adaptée. L'isolement et la détection de ces composés, présents souvent à l'état de traces au sein de matrices complexes, nécessitent de travailler en conditions non contaminantes, avec des méthodes d'extraction et de concentration efficaces, et des techniques de détection dont le seuil de sensibilité soit très bas. Les techniques d'extraction liquide/liquide (ELL) et liquide/solide (ELS) sur résines XAD-2, et la détection en chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée au détecteur NPD apparaissent tout à fait adaptées à l'étude des herbicides en milieu estuarien. De plus, la technique d'ELS sur résines XAD-2 mise au point au laboratoire est adaptée à l'étude des produits de dégradation des triazines. La procédure de contrôle de qualité des résultats mise en place au laboratoire valide ces méthodes.

Mots clés : Echantillonnage, analyse de traces, ELL, ELS, XAD-2, CPG/NPD.



L'ANALYSE DE COMPOSES HERBICIDES A L'ETAT DE TRACES DANS LES ECHANTILLONS NATURELS

Ce chapitre est organisé en deux parties :

La première (A) décrit les stratégies d'étude que nous avons suivies au cours de nos recherches. Elle traite de l'échantillonnage et des différentes étapes des méthodes analytiques utilisées en routine au laboratoire.

La seconde (B) examine en détail les développements méthodologiques réalisés sur les différentes étapes d'analyse des composés. On présente successivement l'évaluation statistique des performances des méthodes d'analyses des herbicides et des produits de dégradation des chloro-triazines en phase dissoute selon deux techniques d'extraction: l'extraction liquide-liquide (ELL) et l'extraction liquide-solide (ELS) sur résines XAD-2. Ces études présentent la particularité intéressante d'avoir été réalisées sur des échantillons naturels. L'ELL a été comparée à l'ELS sur disques C18 d'une part, et à l'ELS sur résines XAD-2 d'autre part, sur des échantillons prélevés le long du gradient de salinité de deux estuaires. La mise au point de la méthode de purification sur silice sera ensuite détaillée. Enfin, on présentera les performances de la CPG (Chromatographie en Phase Gazeuse) couplée au détecteur NPD (Nitrogen Phosphorus Detector).

A) STRATEGIES D'ETUDE

L'orientation de notre étude du transport et du comportement des herbicides en milieu estuarien et marin côtier a porté sur l'établissement de stratégies et méthodes d'échantillonnage, et sur le choix de protocoles analytiques adaptés.

1. Stratégies d'échantillonnage

Si, comme on le verra ultérieurement, l'assurance de qualité des données passe par la mise en place de procédures de contrôle des différentes étapes analytiques, la représentativité de l'échantillon prélevé est tout aussi essentielle (Kratochvil et Taylor, 1981). L'échantillonnage conditionne en effet en premier la validité des résultats.

La non-homogénéité du système au sein duquel sont effectués les prélèvements constitue la plus grande part d'erreur de non-représentativité de l'échantillonnage (Rios et Valcarcel, 1994). Ce problème se pose particulièrement dans un système dynamique tel qu'un estuaire en raison de la non-homogénéité possible des mélanges de masses d'eaux. Nos prélèvements ont été préférentiellement réalisés au milieu des estuaires, afin d'éviter les hétérogénéités de masse d'eau pouvant exister au niveau des berges.

Le plan d'échantillonnage fixe le lieu, la période et la fréquence des prélèvements. Selon les performances analytiques des méthodes utilisées, la quantité minimale d'échantillon nécessaire à la détection des composés recherchés est également déterminée. La planification des prélèvements dans le temps et l'espace doit être optimisée de façon à obtenir des informations significatives, mais le temps nécessaire aux procédures de prélèvements et d'analyse des échantillons limite la fréquence d'échantillonnage.

Au cours de notre étude du transport et du comportement des herbicides dans les estuaires, nous avons choisi d'échantillonner la masse d'eau selon deux grands principes. Le premier consiste à suivre la même masse d'eau au cours de son déplacement (échantillonnage Lagrangien), le second suit les changements des caractéristiques d'une masse d'eau en un point fixe (échantillonnage Eulérien). Les deux types de stratégies ont été souvent mis en place conjointement.

1.1. Profils longitudinaux estuariens

La réalisation de profils longitudinaux le long du gradient de salinité des estuaires a consisté à prélever un point de référence fluviale, puis à échantillonner les autres points de façon à couvrir spatialement tout le système estuarien. Le point de référence fluviale est choisi en amont de l'influence de la marée dynamique. Les prélèvements en aval de cette référence sont réalisés selon les valeurs de salinité, utilisées comme indicateur du mélange des eaux douces et marines.

Idéalement, il conviendrait de suivre une même masse d'eau au cours de son transit de la référence fluviale vers le domaine marin de l'estuaire, mais ce type de suivi pose des problèmes d'ordre pratique, notamment en raison de l'influence des marées. Le temps de résidence de la masse d'eau dans un estuaire macrotidal peut en effet atteindre plusieurs semaines (ex: 12-83 jours dans l'estuaire de la Gironde, Martin *et al.*, 1986). De plus, dans les grands estuaires, l'échelle spatiale est telle que l'on se trouve rapidement confronté à des contraintes dues aux temps de prélèvement qui nécessitent plusieurs jours. Dans un petit estuaire comme celui de la Charente, les prélèvements ont été effectués à marée descendante au cours de la même journée. Dans les grands estuaires, l'échantillonnage s'étendait sur plusieurs jours. L'évolution des concentrations au niveau de stations de référence situées en amont de l'influence dynamique de la marée était alors suivie de façon journalière.

Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau sont systématiquement enregistrées: température (T en °C), salinité (S), oxygène dissous (O_2 en ml.l⁻¹), pH, matières en suspension (MES en mg.l⁻¹), carbone organique dissous (COD en µmol.l⁻¹) et particulaire (COP en mg.l⁻¹). Les mesures de T, O_2 et pH sont effectuées à bord. La salinité est mesurée in situ et vérifiée ensuite au laboratoire à l'aide d'un salinomètre Beckman RS-9. Les mesures des MES et COP sont également réalisées au laboratoire. Le COD est mesuré par HTCO (High Temperature Catalytic Oxydation) sur Shimadzu TOC-500 au laboratoire de Chimie et Modélisation des Cycles Naturels à l'IFREMER de Brest. Les paramètres tels que débit, heure de prélèvement, heure et coefficient de marée sont également relevés.

1.2. Points fixes

Des prélèvements au niveau de points fixes ont été effectués au cours de cycles de marée dans le bassin de Marennes-Oléron, afin de suivre l'évolution des concentrations en contaminants au cours du mélange des masses d'eau dans le bassin. Les prélèvements étaient effectués à raison d'un échantillon toutes les trois heures.

Cette approche a également été choisie lors de la réalisation des profils longitudinaux estuariens en Gironde et en Seine, où l'évolution des caractéristiques de la masse d'eau a été suivie en un point fixe au cours d'une marée.

1.3. Suivi saisonnier

Un suivi saisonnier a été réalisé de Mai 1992 à Septembre 1993 sur trois canaux des marais de Charente Maritime. Ce suivi fut organisé sur la base d'un prélèvement mensuel. La fréquence d'échantillonnage fut augmentée en période d'épandage à un prélèvement par semaine pendant cinq semaines. Les résultats de ce suivi feront l'objet du chapitre 3.

L'étude avait comme objectif d'évaluer l'influence des traitements agricoles sur la qualité des eaux des canaux de drainage d'une région d'agriculture intensive, et de mettre

en évidence les variations saisonnières des concentrations en pesticides dans ces eaux. Cette étude nous a permis de préciser la dynamique de transfert de produits phytosanitaires des zones d'utilisation vers le milieu aquatique, sur une petite échelle géographique.

Cette étude devait également nous permettre de calculer les flux de produits apportés par les trois canaux à la Charente et au bassin de Marennes-Oléron. Ce calcul s'est cependant avéré impossible en raison d'un manque d'informations sur les périodes d'ouverture et les volumes d'eau déversés par les canaux.

1.4. Campagnes de prélèvements

Les différentes campagnes de prélèvements ayant servi de supports à nos études sont récapitulées dans le tableau 2.1. On y indique les sites et périodes de prélèvement des différentes missions, les gammes de salinités qui ont été échantillonnées, et les stratégies d'échantillonnage suivies.

SITE	N/O	MISSION	PERIODE	SALINITE	STRATEGIE
Canaux Marais			05/92-09/93	0-8	Suivi temporel (mensuel et hebdomadaire)
Charente	Gwen-Drez	Gael 2	15/02/92	0.3-30.2	Profil estuarien
	Gwen-Drez	Gael 1	30/04-04/05/91	2.9-34.2	Variations spatiales dans le bassin
Bassin de			30/04/91	29.5-34.2	Point fixe sur un cycle de marée
Marennes-Oléron	Gwen-Drez	Gael 2	19-20/02/92	30.7-33.3	Point fixe sur un cycle de marée
	Gwen-Drez	Tresterb	7-8/06/93	>30	Variations spatiales
Gironde	Gwen-Drez	Gael 2	16-17/02/93	0.2-30.5	Profil estuarien
	Gwen-Drez	Tresterb	3-5/06/93	0.1-34.5	Profil estuarien
Seine	Thalia	Seav	8-13/10/93	0-34.5	Profil estuarien
Rhône	Korotneff	Hyun	23-25/07/92	0.1-38	Profil
			22-26/07/92	0.1-0.5	Références fluviales

Tableau 2.1: Campagnes de prélèvements et stratégies d'échantillonnage.

(N/O pour Navire Océanographique).

1.5. Méthode de prélèvement

Les échantillons ont été collectés à bord de navires de recherches océanographiques de l'IFREMER ou de l'INSU. Les prélèvements d'eau sont effectués en sub-surface à une profondeur d'environ 50 cm, à l'aide d'une pompe fonctionnant à l'air comprimé. La pompe et les tuyaux (ASTI, France) sont en téflon (PTFE), matériau non contaminant et non rétensif vis-à-vis des composés recherchés. Avant utilisation, les pompes et tuyaux sont lavés successivement à l'eau Milli-Q, l'acide nitrique à 10%, l'eau bi-distillée et l'éthanol pendant chacun 1 heure. Les extrémités sont fermées par du papier aluminium jusqu'à leur utilisation.

Dans la mesure du possible, les prélèvements sont effectués en premier lieu dans les eaux marines et les eaux de salinités intermédiaires, puis au niveau des eaux fluviales plus chargées en contaminants. Cette précaution évite la contamination des échantillons au cours des prélèvements successifs. Elle s'applique également aux autres étapes du traitement des échantillons (filtrations, extractions, concentrations).

Lors de la première utilisation du matériel suivant le nettoyage, et à chaque nouvelle station, les tuyaux et pompes sont abondamment rincés avec l'eau prélevée. Les bonbonnes et bouteilles de prélèvement sont rincées trois fois avant la récupération finale des échantillons.

Les échantillons sont filtrés et extraits à bord. Lorsque les charges en MES le permettent, la filtration est faite en ligne avec le prélèvement. On prend alors soin de faire circuler abondament l'eau du point échantillonné dans les tuyaux de prélèvement avant de les connecter au porte-filtre.

Lorsque les échantillons sont ramenés au laboratoire, les filtrations et extractions sont effectuées dans un délai n'excédant pas 24 heures après le prélèvement.

2. Protocoles d'analyse d'échantillons naturels

2.1. Spécificités

L'analyse de composés organiques présents à l'état de traces dans des matrices naturelles nécessite, tant au niveau des manipulations qu'au niveau analytique, la mise en oeuvre de précautions particulières et l'utilisation de matériel adapté.

Deux préoccupations majeures gouvernent la réalisation d'analyses de composés à l'état de traces dans l'environnement. La première est liée à la diversité et la complexité des mélanges présents dans les matrices naturelles; elle nécessite la mise en oeuvre de techniques d'extraction et de détection sélectives. La seconde tient au niveau de présence des contaminants recherchés : souvent à l'état de traces, il est nécessaire de procéder à leur concentration avant de pouvoir les détecter. Ainsi, au cours des étapes d'extraction et concentration, les solutés sont concentrés d'un facteur voisin de 10⁵.

2.2. Matériel et produits

Les divers matériaux utilisés sont le verre boro-silicaté, le téflon (tétrafluorocarbone PTFE), et l'acier inoxydable.

Le matériel est lavé au détergent de laboratoire, abondamment rincé à l'eau Milli-Q ou bi-distillée, puis au méthanol. Lorsqu'elle s'y prête, la verrerie est passée une nuit au four à 450°C. L'eau bi-distillée est préférée à l'eau Milli-Q pour les étapes finales de rinçage car cette dernière fournit des blancs plus chargés (Munschy, 1991). L'aluminium servant à fermer ou emballer le matériel est préalablement passé au four à 450°C.

Les flacons de 100 ml servant au prélèvement du COD sont passés au four à 450°C pendant une nuit. Les bouchons sont rincés à l'eau bi-distillée et séchés à l'étuve. Les échantillons d'eau filtrée sur filtre GF/F (0.7 µm) de 47 mm de diamètre sont congelés à bord des navires à -20°C et conservés jusqu'à analyse.

La silice (Merck, Darmstadt, France) et le sulfate de sodium anhydre (Merck) sont passés au four à 450°C pendant une nuit, et conservés à l'étuve à 120°C.

Les solvants fournis par SDS (Peypin, France) sont compatibles avec l'analyse de composés organiques à l'état de traces. Leur qualité varie selon le type de solvant: pestipur (méthanol, iso-octane, n-hexane), atrasol (dichlorométhane, acétate d'éthyl, acétonitrile). L'acide nitrique (HNO₃) utilisé lors des étapes de rinçage est de qualité Suprapur (Merck).

Les pesticides utilisés (Promochem, S.A., Strasbourg, France) sont de pureté supérieure à 99%. Les solutions étalons sont préparées dans l'iso-octane par dilutions d'une solution-mère préparée dans un mélange de méthanol et d'acétate d'éthyl. Les différentes dilutions sont préparées dans une gamme de concentrations s'étendant de 65 pg.µl⁻¹ à 19 x10³ pg.µl⁻¹; cette gamme varie selon les composés.

La résine macroréticulaire XAD-2 est obtenue chez Prolabo (Paris, France). Les disques d'extraction "Empore" de 47 mm de diamètre et 0.5 mm d'épaisseur sont distribués par J.T. Baker ou Varian.

2.3. Séquence analytique générale

Les différentes étapes de la séquence analytique générale sont présentées sur la figure 2.1.



Figure 2.1 : Séquence analytique générale.

2.4. Filtration

Les échantillons d'eau sont systématiquement filtrés sur filtres en fibre de verre (Whatman) de porosité nominale 0.7µm (GF/F). Avant d'être utilisés, ces filtres sont emballés individuellement dans de l'aluminium et brulés à 450°C. La filtration est réalisée sous pression positive à l'aide de porte-filtres en acier inoxydable et téflon, de diamètre 142 mm ou 293 mm selon le volume d'eau traité (de 2 à 40 litres). Des tuyaux et raccords en téflon relient la pompe (également en téflon) au porte-filtre.

Entre deux échantillons, le support en téflon du porte-filtre est rincé à l'eau bi-distillée. Les bouteilles de récupération de l'échantillon après filtration sont rincées trois fois avec l'eau filtrée pour éliminer toute présence de particules. Ce volume de rinçage sera ajouté au volume extrait pour obtenir le volume filtré total. Les filtres sont ensuite conservés à -20°C jusqu'à leur traitement.

Au fur et à mesure de la filtration, un colmatage des pores du filtre peut se produire. Ce phénomène de colmatage entraîne des modifications des propriétés du filtre pouvant induire une rétension accrue de matière organique dissoute (Hermans *et al.*, 1992). Ainsi,

selon la charge en particules des eaux, un ou plusieurs filtres ont été utilisés par échantillon. Toutefois, les composés que nous avons étudiés présentent des coefficients de partage entre phase particulaire et phase dissoute qui sont faibles. Ils sont donc présents majoritairement à l'état dissous, et n'ont pas tendance à s'adsorber en surface du filtre. D'autre part, nous n'avons pas mis en évidence de rétention accrue de carbone organique dissous (COD) en effectuant des mesures sur différentes quantités aliquotes de filtrat récupérées au cours de la filtration sur un même filtre (293 mm de diamètre) de 15 litres d'eau naturelle (Canal de Brouage).

L'étape de filtration ne semble pas être de règle pour les analyses de composés organiques tels que les herbicides dans des échantillons naturels. Le temps nécessaire et le coût des manipulations de deux fractions séparées, et le fait que la majeure partie des composés concernés soit associée à la phase dissoute en sont les principales raisons. Cependant, cette étape devient nécessaire lorsque l'on s'intéresse au comportement géochimique des composés. L'étude de la distribution des composés entre phases dissoute, particulaire et colloïdale est en effet fondamentale car elle détermine leur comportement dans l'environnement. Par ailleurs, d'un point de vue analytique, cette étape est fondamentale car les techniques d'extraction (liquide-liquide ou liquide-solide) ont une efficacité accrue lorsqu'elles sont effectuées sur une eau préalablement filtrée. La filtration réduit la formation d'émulsion lors d'une extraction liquide-liquide. De plus, les composés associés aux MES peuvent conduire à la présence de produits co-extraits pouvant interférer dans l'identification des solutés recherchés.

2.5. L'Ultra-Filtration Tangentielle (UFT)

Des échantillons d'eau préalablement filtrée sur filtres GF/F (0.7µm) ont été ultrafiltrés en vue de séparer la fraction colloïdale. L'UFT a été réalisée sur des membranes minérales tubulaires multi-canaux (19 canaux, Ceraflo, Millipore, France), ou à canal unique (Carbosep, Techsep, France). Nous avons choisi d'utiliser ces membranes car elles présentent pour nous l'avantage d'être résistantes à une large gamme de pH et aux solvants organiques, permettant ainsi de procéder à des nettoyages poussés. De plus, elles permettent de s'affranchir des problèmes de blancs irréguliers rencontrés généralement avec les membranes organiques (Carlson *et al.*, 1985).

Deux membranes de compositions différentes ont été utilisées : une membrane en alpha-alumine possèdant un seuil de coupure voisin de 50 000 dalton (Ceraflo, surface membranaire: 0.12 m²), et une membrane en zircone et support en carbone graphite de seuil de coupure 10 000 dalton (Carbosep, surface membranaire : 0.0225 m²). A notre connaissance, ces seuils de coupure sont actuellement les plus bas qui soient disponibles sur le marché pour des membranes minérales.

Par opposition à ce qui se passe lors d'une filtration frontale classique, la circulation de l'eau en UFT s'effectue à débit élevé, tangentiellement à la membrane (figure 2.2). Ce mode de circulation évite les phénomènes d'accumulation de matériel en surface de la membrane et réduit les phénomènes de colmatage des pores (Fabre, 1987).



Figure 2.2 : Schéma du principe d'ultra-filtration tangentielle sur une membrane minérale multi-canaux.

Le dispositif expérimental que nous avons mis au point et utilisé est schématisé sur la figure 2.3. La membrane de 840 mm de long est installée dans un carter en acier inoxydable. Les raccords, les manomètres et la vanne de contre-pression sont en acier inoxydable, les joints en téflon ou viton. La circulation de l'eau dans le système s'effectue au moyen d'une pompe (ASTI, France) fonctionnant à l'air comprimé. La pompe fonctionne avec une pression d'air maximale de 7 bars, et permet un débit maximal de circulation de l'eau de 200 litres par heure. Une vanne de contre-pression située après la membrane d'UFT permet d'augmenter manuellement la pression dans le circuit. Avec une pression hydraulique mesurée à l'entrée du système d'environ 1 bar, le débit du filtrat avec la membrane à 50 000 dalton est compris entre 250 et 280 ml.min.⁻¹. Nous avons utilisé ce dispositif aussi bien au laboratoire qu'à bord des navires de recherche océanographiques.



Figure 2.3 : Dispositif expérimental d'ultra-filtration tangentielle.

Des échantillons naturels de grands volumes prélevés à différents niveaux de salinités de l'estuaire de la Seine ont été traités. Pour chaque échantillon, le filtrat et le concentrat ont été récupérés pour l'analyse des herbicides. Dans chaque fraction, le carbone organique dissous a également été analysé par HTCO. Entre chaque échantillon, la membrane est nettoyée par passages de NaOH (0.2M), HNO3 (10%) et eau bi-distillée (45 minutes chaque) (Sempéré, 1991). On vérifie ensuite que l'on retrouve bien la perméabilité initiale de la membrane, en mesurant le débit du filtrat.

La mise en place de cette manipulation constitue une première pour l'étude de la sorption des herbicides en phase colloïdale dans les échantillons naturels. On peut signaler que le même type de membrane minérale (zircone et oxyde d'aluminium) avait été utilisé par Sempéré (1991) pour l'étude du carbone organique colloïdal en milieu marin. La

42

membrane utilisée par Sempéré était de dimension inférieure à celles que nous avons utilisées (16 cm de long) et ne permettait le traitement que de 250 à 350 ml d'eau (Sempéré *et al.*, 1994).

2.6. Etalonnage interne

Après filtration, l'eau est récupérée dans des bonbonnes en verre et dopée avant extraction avec une quantité connue d'un étalon interne. L'ajout de ce composé sert à évaluer le rendement de l'ensemble des manipulations (extractions, concentrations, purification) pour chaque échantillon. Les résultats sont par la suite exprimés en concentrations corrigées par rapport à cet étalon. L'utilisation d'un tel composé-test est indispensable car les différentes étapes de préparation des échantillons sont nombreuses et peuvent entraîner d'éventuelles pertes des produits. L'utilisation d'un étalon interne de rendement est un atout supplémentaire pour l'assurance de qualité des données.

Le composé servant d'étalon interne doit être choisi avec soin. Un produit appartenant à la même famille chimique que les composés à analyser, ou de caractéristiques proches, est préférable. En outre, il doit être absent de l'échantillon d'origine, et ne pas interférer en chromatographie avec les composés présents. Nous avons utilisé comme étalon de rendement des herbicides peu ou pas utilisés (cyprazine, amétryne, pretilachlor, prometryne). Lors de chaque mission, un échantillon prélevé en référence fluviale était analysé sans être dopé, afin de vérifier les co-élutions. Souvent, l'utilisation conjointe de deux étalons internes nous a permis de pallier aux problèmes de co-élution.

L'étalon est introduit en solution dans un solvant miscible à l'eau et non limitant pour la solubilité des composés, généralement le méthanol. La quantité introduite est choisie de façon cohérente avec les niveaux de concentration rencontrés dans les échantillons.

2.7. Extractions des composés en phase dissoute

Dans ce paragraphe sont décrits les protocoles analytiques utilisés lors de l'extraction des herbicides en phase dissoute. L'évaluation des performances des méthodes feront l'objet du § 2.4.

Les **extractions liquide-liquide** (ELL) sont réalisées par trois ajouts successifs de chacun 300 ml ou 750 ml de dichlorométhane dans des volumes d'eau de 5 ou 15-20 litres respectivement. Les échantillons de volumes inférieurs à 5 litres sont extraits par agitation manuelle en bouteilles munies de bouchons à renversement permettant de récupérer le solvant. Les échantillons de grands volumes (15-20 litres) sont mélangés mécaniquement dans des extracteurs conçus au laboratoire selon le modèle initial de Saliot (1975). Après

chaque agitation (10 à 30 minutes selon le volume des échantillons), la phase organique est récupérée après environ une heure de décantation, et séchée par un ajout de sulfate de sodium anhydre.

Les extractions liquide-solide (ELS) ont été réalisées sur résine XAD-2 et sur disque Empore (phase C18).

Les disques Empore de 47 mm de diamètre ont été utilisés avec un dispositif de filtration sous vide Millipore. Ces disques sont constitués de particules adsorbantes de 8µm en silice greffée (diamètre des pores: 60 Angström) par une phase C18, réparties dans une matrice inerte en fibres de téflon. Chaque disque contient environ 500 mg de silice. Les disques sont conditionnés et utilisés selon les recommandations du fabricant (solvant final d'élution puis méthanol). Des échantillons de volumes inférieurs à 4 litres ont été traités. L'acétate d'éthyle est utilisé comme solvant de désorption, avec deux quantités aliquotes de 10 ml chacune. On ajoute aux extraits récupérés du sulfate de sodium anhydre pour éliminer l'excédent d'eau.

Les résines XAD-2 sont constituées de copolymères de styrène et divinylbenzene ; ce sont des sorbants non polaires à caractère hydrophobe. Leur utilisation est recommandée pour l'extraction de nombreux composés organiques non ioniques en phase dissoute (Daignault et al., 1988 ; Junk et al., 1974). Avant utilisation, la résine est purifiée selon le protocole suivant : la résine est décantée plusieurs fois dans l'eau bi-distillée, extraite au soxhlet avec une succession de trois solvants (méthanol, acétonitrile, dichlorométhane) pendant chacun huit heures, puis stockée dans le méthanol (Junk et al., 1974 ; Daignault et al., 1988). Des colonnes en téflon de 37 cm de long et 19 mm de diamètre interne sont remplies avec environ 50 g de résine dans le méthanol. La colonne est reliée au système de pompage (préleveur sur résine Seastar Instruments Ltd, ou pompe péristaltique) par des tuyaux en téflon. Avant chaque utilisation, la résine est conditionnée par une succession de 100 ml de méthanol et 300 ml d'eau bi-distillée. Cette étape a pour but d'imprégner la surface interne des pores de la résine afin d'assurer le contact entre les phases solide et liquide ; ce contact est indispensable à une adsorption optimale (Font et al., 1993, Liska et al., 1989). La résine est régénérée entre chaque échantillon par passage de méthanol pour nettoyer le sorbant. Un nettoyage au NaOH (0.1M) est fréquemment réalisé pour éliminer les substances humiques. Le débit auquel les échantillons percolent au travers des colonnes est contrôlé et réglé à 70 ml.min.-1, et ne doit en aucun cas excéder 100 ml.min.-1. Après passage de l'échantillon au travers de la colonne, on note le volume percolé, puis les parois du flacon sont rincées à l'eau bi-distillée (trois fois 150 ml) que l'on fait passer à travers la colonne. Les colonnes sont séchées par aspiration au moyen d'une pompe à vide. La désorption des composés s'effectue avec 150 ml de dichlorométhane percolant par gravité, à 10 ml.min.⁻¹ au maximum. Des échantillons naturels de 2 à 20 litres d'eau ont été concentrés sur ces résines. La figure 2.4 schématise le dispositif expérimental mis en place lors de l'utilisation de ces résines (figure du haut : adsorption ou préconcentration ; figure du bas : désorption ou élution).





Figure 2.4 : Shéma du dispositif expérimental mis en place lors de l'ELS sur résines XAD-2.

2.8. Extractions des composés en phase particulaire

Les échantillons (MES ou sol) stockés à -20°C sont lyophilisés juste avant extraction, afin d'en éliminer l'eau résiduelle. Les filtres sont découpés et placés dans des soxhlets de 500ml. Après ajout d'une quantité connue d'un étalon interne, l'extraction s'effectue pendant 24 heures par un mélange de méthanol et de dichlorométhane en proportions volumiques 1 : 2. Le solvant récupéré en fin d'extraction (environ 300 ml) est filtré sous vide sur filtres en fibre de verre de 47 mm de diamètre et de porosité 0.7 µm (GF/F), afin d'éliminer les particules passées dans le mélange de solvants au cours de l'extraction. Après rinçage du système de filtration au mélange méthanol/dichlorométhane 1 : 2, la totalité de l'extrait est récupérée avant concentration.

2.9. Concentrations des extraits

Les concentrations sont effectuées à température ambiante, en deux étapes. Après ajout de quelques ml de solvant final d'injection (iso-octane), le volume de l'extrait est réduit à quelques ml au moyen d'un évaporateur rotatif sous-vide, puis sous jet d'azote. Cette dernière étape réduit le volume de l'extrait à quelques centaines de microlitres et permet de passer au solvant d'injection (iso-octane). Lorsque le passage au solvant d'injection ne peut être direct pour des raisons de contrainte de miscibilité (ex : méthanol et dichlorométhane), l'acétate d'éthyl est utilisé comme solvant intermédiaire.

Avant purification et injection en chromatographie en phase gazeuse, les extraits concentrés sont filtrés sur seringue équipée de filtres en fibre de verre (25 mm ou 13 mm de diamètre) de porosité 1 µm (GF/B) afin d'éliminer les diverses suspensions (Na₂SO₄, précipitations, débris des filtres des échantillons de MES).

2.10. Purification et séparation

Cette étape vise d'une part à débarasser l'échantillon de substances co-extraites qui pourraient interférer et gêner l'identification des composés en chromatographie en phase gazeuse, et d'autre part à séparer les composés du mélange en différentes fractions selon des critères de polarité. Le terme de *"cleanup"* regroupe ces deux notions.

Cette étape ne s'est pas avérée nécessaire pour l'analyse en GC/NPD des herbicides en phase dissoute dans les échantillons, même dans le cas d'extraction de grands volumes. Nous n'avons utilisée cette procédure que sur les fractions particulaires.

La méthode que nous avons retenue utilise comme support la silice (70-230 Mesh) désactivée à 6% d'eau. La désactivation doit conduire à un support qui soit le plus homogène possible. L'eau est donc ajoutée progressivement et la silice agitée soigneusement. La préparation fermée hermétiquement est stockée pendant 24 heures

46

avant la première utilisation, et conservée au maximum 4 jours. La mise au point et les performances de cette méthode seront décrites au § 2.5.

Des colonnes en verre de 10 mm de diamètre interne sont remplies avec 2 g de silice. On évite la formation de bulles dans la colonne en y introduisant la silice déjà mélangée à l'hexane. La colonne remplie est alors abondamment rincée à l'hexane, en veillant systématiquement à ne jamais laisser la silice à sec. L'utilisation de colonnes à robinets en téflon permet de contrôler la vitesse d'élution, réglée à une goutte par seconde. Entre 400 et 500 µl d'extrait dans l'iso-octane sont déposés en tête de colonne, et laissés percoler jusqu'à affleurer le sommet de la silice. Les quatres fractions utilisées successivement sont les suivantes: (I) 30 ml d'hexane, (II) 40 ml d'un mélange d'hexane et de 25% d'acétate d'éthyle, (III) 30 ml d'un mélange d'hexane et de 50% d'acétate d'éthyle et (IV) 30 ml d'acétate d'éthyle. Chaque ajout de solvant est fait en veillant à ne pas perturber la surface de l'adsorbant. Les herbicides qui nous intéressent éluent majoritairement en fraction II.

2.11. Identification et dosage

CPG/NPD

L'identification et le dosage des composés dans les échantillons naturels ont été réalisés en CPG couplée à un détecteur sélectif vis-à-vis des atomes d'azote et de phosphore (NPD: Nitrogen Phosphorus Detector, ou TSD: Thermionic Selective Detector). Le chromatographe que nous avons utilisé (Varian 3400) est équipé d'un système d'injection automatique (Varian 8100), et d'un injecteur programmable en température (SPI: Septum equiped Programmable Injector). Un micro-litre de solution étalon ou d'extrait dans l'iso-octane est injecté en mode haute performance (pseudo "on-column").

Colonnes capillaires

Deux colonnes capillaires (J&W Scientific) de polarités différentes ont été utilisées: une colonne à phase non polaire (DB5, 5% phényl-méthylsilicone) et une colonne à phase polaire (DX4, 85% polyéthylène-glycol). Avant leur utilisation, les colonnes sont conditionnées pendant une nuit : la colonne déconnectée du détecteur est chauffée à 1°C.min.⁻¹, de 50°C jusqu'à la température maximale d'utilisation de la colonne.

Après l'injection de plusieurs échantillons d'eau naturelle, une diminution du pouvoir de résolution des colonnes est observée. Ce phénomène est dû à l'accumulation de composés co-extraits au niveau de l'insert et en tête de colonne de composés co-extraits. Pour ré-obtenir les conditions initiales d'analyse, on procède alors au nettoyage ou au changement de l'insert, et on coupe les premiers centimètres de la colonne (Bellar et

Budde, 1988). Nous avons également pu observer une dégradation physique de la colonne qui devenait friable au fur et à mesure des injections.

Détecteur

Le détecteur que nous avons utilisé au cours de nos études est le détecteur NPD (Nitrogen-Phosphorus Detector) distribué par Varian. On le retrouve également dans la littérature sous l'appellation de détecteur TID (Thermionic Detector) ou FASD (Flameless Alkali Sensitized Detector) (Dressler, 1986). Ce détecteur est sensible et sélectif vis-à-vis des molécules azotées et/ou phosphorées.

La partie réactive du détecteur est constituée d'une bille en céramique formée d'un sel de métal alcalin (Na, K, Rb, ou Cs). La bille est chauffée (700 à 900°C) électriquement par application d'un courant entraînant l'ionisation du métal alcalin. Cette ionisation fournit le courant de base collecté par une électrode située au voisinage de la bille (Dressler, 1986). Les solutés, après leur élution dans la colonne, arrivent dans l'environnement proche de la bille. Ils sont alors décomposés sous l'effet de la température, forment des ions négatifs qui, collectés par l'électrode positive, fournissent le signal électrique. Le détecteur dans son ensemble est maintenu à température constante (300°C). Les gaz nécessaires à son fonctionnement sont l'air, l'hélium et l'hydrogène. Ces gaz sont de très haute qualité, et des filtres de purification sont installés en ligne sur les circuits. L'environnement gazeux hydrogène-air fournit des espèces réactives jouant un rôle dans la décomposition et l'ionisation des composés se produisent en surface de la bille : ils ont été décrits par Bombick et Allison (1989).

Avant son utilisation, la bille subit une phase de conditionnement: le courant appliqué est initialement fixé à 2.4 A, et progressivement augmenté par sauts de 0.05A, en prenant soin d'espacer ces sauts de 15 minutes au minimum. Il en résulte une augmentation du courant de base, lente dans un premier temps. Lorsque le courant appliqué entraîne une élévation brusque de la ligne de base (jusqu'à des valeurs supérieures à 100 mV), la partie réactive a atteint sa température d'ignition. On laisse alors la bille se stabiliser une nuit, puis on ré-augmente le courant de 0.02 à 0.03 V. La stabilité de la réponse du détecteur n'est atteinte qu'après quelques jours, délai nécessaire avant toute procédure de quantification. Lors d'une inutilisation prolongée du détecteur, le courant appliqué est mis à zéro.

Au fur et à mesure de son utilisation, on observe une diminution du niveau de sensibilité du détecteur. On augmente alors le courant appliqué à la bille (de 0.05 V). Un temps de stabilisation est ensuite nécessaire avant d'entamer toute procédure de
quantification. Lorsque le courant appliqué devient trop élevé, la céramique se fendille, le niveau de réponse chute: la limite de durée d'utilisation de la bille est atteinte.

Régulièrement, le détecteur est démonté et la surface de la bille nettoyée délicatement à l'aide de papier de verre pour éliminer les produits d'oxydation qui s'y sont accumulés. Cette opération de démontage permet en outre d'inspecter visuellement l'état de surface de la bille.

Il nous a été possible de travailler dans de très bonnes conditions de sensibilité avec une même bille pendant une année. Ces conditions optimales de fonctionnement ne peuvent être atteintes que si les débits de gaz sont maintenus, et si aucun choc électrique ne se produit. En effet, lorsqu'une coupure de courant suivie d'une brusque remise sous tension intervient, la bille qui est soumise rapidement au courant d'utilisation normale se fend. Les différents troubles pouvant apparaître dans le fonctionnement du détecteur ont été examinés en détail dans le rapport de Munschy (1991).

Traitement des données

L'acquisition et le traitement des chromatogrammes sont réalisés sur PC au moyen d'un logiciel (Maxima 820, Divisions of Millipore, USA) permettant la calibration de la réponse et la quantification des échantillons. L'intégration et l'identification des pics chromatographiques sont contrôlés manuellement. Les signaux sont également saisis par un traceur sur papier (HP 3388A).

Le tableau 2.2 récapitule l'ensemble des conditions chromatographiques utilisées pour nos analyses en CPG/NPD.

CPG/SM

La confirmation de l'identification des composés est réalisée en CPG (Hewlett-Packard 5890A) couplée à la spectrométrie de masse (SM, HP 5989A). Le chromatographe est équipé d'un échantillonneur automatique (HP 7673) et d'un injecteur splitless maintenu à 250°C. Une colonne capillaire non polaire (HP Ultra-2, 5% phénylméthylsilicone) de 50m x 0.2mm (d.i.) est utilisée avec l'hélium comme gaz vecteur (22cm.s⁻¹). La calibration est réalisée quotidiennement par la perflurotributhylamine (PFTBA). Le tableau 2.3 récapitule les conditions d'analyse utilisées en CPG/SM.

INJECT Automat Mode S Programm	TION tique SPI ation :
50°C / 250°C (120°C.min. ⁻¹)	50°C / 230°C (120°C.min. ⁻¹)
SEPARA	TION
Colonne DB5 (5% Phényl-Méthylsilicone) Caractéristiques : 30 n Epaisseur phase	Colonne DX4 (85% Poly-Ethylène-Glycol) n x 0.32 mm (d.i.) e : 0.25 µm
Programm	nation :
50°C (1 min.) / 150°C (15°C.min. ⁻¹) / 250°C (3°C.min. ⁻¹)	50°C (1 min.) / 150°C (20°C.min. ⁻¹) / 230°C (3°C.min. ⁻¹)
Gaz vecteur (Hélium): 16	psi en tête de colonne
DETECT	ΓΙΟΝ
NPD Température Gaz: H ₂ : 4.5 He (make-up): 2 Air: 180 ml	e: 300°C ml.min. ⁻¹ 20 ml.min. ⁻¹ min. ⁻¹

Tableau 2.2 : Conditions expérimentales utilisées en CPG/NPD (chromatographe VARIAN 3400).

	INJECTION Automatique Mode Splitless 250°C
Ch	romatographie en Phase Gazeuse (HP 5890 A)
	Colonne HP-Ultra 2 (5% phényl-méthyl)
	50 m x 0.20 mm (d.i.)
	Epaisseur phase : 0.33 µm
	Programmation:
8	0°C (1 min) / 140°C (15°C/min) / 270°C (3°C/min)
	Gaz vecteur (Hélium): 19.7 psi
	Spectrométrie de Masse (HP 5989 A) Impact Electronique 70 eV
	Interface: 280°C
	Source: 275°C
	Quadrupôle: 100°C

Tableau 2.3 : Conditions expérimentales utilisées en CPG/SM.

B) DEVELOPPEMENTS METHODOLOGIQUES

Tout au long des différentes étapes d'analyse, nous nous sommes attachés à développer des techniques qui soient adaptées à l'étude des herbicides et des principaux produits de dégradation des chloro-triazines. Ces développements présentent un intéret majeur pour l'étude du comportement des herbicides et de leurs produits de dégradation en milieu estuarien et marin côtier, et constituent les premières études analytiques détaillées sur des échantillons naturels. Par ailleurs, ils répondent aux besoins croissants de mesures fiables relatives à l'évaluation de la qualité de l'environnement.

Les études menées sur des échantillons naturels étant incompatibles avec la réalisation routinière de réplicats nombreux, elles nécessitent la mise en place de procédures de contrôle rigoureux des méthodes analytiques. La validation des méthodes passe par un protocole d'assurance de qualité des données et des bonnes pratiques de laboratoire (Onuska, 1989).

Dans cette seconde partie seront présentés les développements des méthodes que nous avons réalisés au laboratoire. On examinera dans un premier temps l'influence du stockage prolongé d'échantillons naturels sur la variation des concentrations en herbicides dissous. On détaillera ensuite l'évaluation statistique des performances de deux techniques d'extraction des herbicides en phase dissoute (Extraction Liquide-Liquide = ELL et Extraction Liquide-Solide = ELS). La méthode de purification et de séparation des herbicides mise au point au laboratoire sur colonne de silice sera discutée. Enfin, les techniques de détection et de quantification des composés par CPG/NPD seront examinées.

Etude de l'influence du stockage prolongé d'échantillons d'eau filtrée

Le stockage d'échantillons pendant un temps séparant le prélèvement du traitement proprement dit constitue une possible source d'erreur sur le résultat: des processus de dégradation peuvent intervenir, conduisant à une perte des composés, et à une apparition de produits de transformation.

Les recommandations des méthodes EPA-NPS stipulent que les analyses de pesticides et de leurs produits de dégradation doivent être effectuées le plus rapidement possible après le prélèvement (Chiron *et al.*, 1993). Cette notion de "plus rapidement possible" est peu précise car elle dépend des composés étudiés. Dans certaines conditions de stockage, il est parfois possible d'éliminer les phénomènes de dégradation : une étude menée sur le suivi de 147 composés pendant 28 jours dans des échantillons naturels

dopés, biologiquement inhibés, et stockés à 4°C a montré que pour la majorité des composés, aucune dégradation n'était mise en évidence (Munch et Frebis, 1992).

Nous avons quant à nous voulu évaluer l'impact du stockage d'un échantillon au laboratoire pendant une période prolongée sur des eaux naturelles non préservées (sans inhibiteur biologique et sans acidification). Un suivi de l'évolution des concentrations en contaminants a donc été réalisé sur un échantillon prélevé le 4 juin 1993 sur la Garonne au cours de la mission "Tresterb". Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau étaient les suivantes: S= 1, pH= 7.8, O₂ dissous= 7.8 mg.l⁻¹, COD= 192 µmol.l⁻¹. L'étude a été réalisée pendant une période de sept mois.

Vingt litres d'eau filtrée ont été stockés dans un flacon en verre transparent soumis à un éclairage artificiel continu, dans un laboratoire à température constante (15°C) et air filtré. Chaque mois, deux litres furent prélevés, dopés par un étalon interne de rendement (prometryne ou pretilachlor) puis extraits par une ELS sur résine XAD-2. Les concentrations au temps zéro ont été déterminées sur un échantillon de 15 litres extrait de façon identique. Après cinq mois de stockage, un développement d'algues unicellulaires (diatomées benthiques et algues vertes flagellées) s'est produit dans le flacon.

Les niveaux de concentration des 6 composés identifiés: simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine, alachlor et metolachlor suivis pendant les sept mois sont présentés dans le tableau 2.4.

Temps en jours	0	55	83	115	154	184	222
Simazine	159	135	139	145	141	155	154
Atrazine	351	292	315	324	321	350	346
DEA	97	71	105	103	91	106	125
DAR	0.28	0.24	0.33	0.32	0.28	0.3	0.36
Terbuthylazine	31	55	31	30	53	48	33
Alachlor	99	120	75	76	108	96	44
Metolachlor	92		74	81	117	115	75

Tableau 2.4 : Variations des niveaux de concentrations (ng.l⁻¹) en divers herbicides, et du rapport DEA/atrazine (DAR) au cours de sept mois de stockage d'un échantillon naturel prélevé en juin 1993 sur la Garonne. Concentrations corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

La figure 2.5 montre l'évolution des concentrations en simazine, atrazine et DEA au cours des sept mois de stockage: aucune diminution des concentrations n'est observée. Par ailleurs, les concentrations en DEA n'augmentent pas. Le rapport DEA/atrazine varie entre 0.24 et 0.36, mais ne montre pas de tendance à l'augmentation au cours du stockage (figure 2.6).



Figure 2.5 : Suivi temporel des concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine et DEA au cours de sept mois de stockage d'un échantillon naturel prélevé sur la Garonne en juin 1993. Concentrations corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.



Figure 2.6 : Evolution du rapport DEA/atrazine (DAR) au cours de sept mois de stockage d'un échantillon naturel prélevé sur la Garonne en juin 1993.

Nos observations montrent qu'aucune dégradation notable des composés ne s'est produite au cours de l'étude. Ces résultats présentent plusieurs implications relatives d'une

part à la problématique du traitement des échantillons avant analyse, et d'autre part au comportement des composés dans l'environnement. Nos résultats montrent que le stockage des échantillons avant analyse quantitative des herbicides considérés n'entraînerait pas de changement des résultats. De plus, ces résultats suggèrent que les eaux prélevées ne possédaient pas de capacité de dégradation microbiologique vis-à-vis des herbicides étudiés. Ils montrent également que les phénomènes d'hydrolyse des composés n'interviennent pas sur la période de temps considérée (7 mois), et que leur cinétique est donc lente.

Nos résultats s'accordent avec les précédentes études menées sur la dégradation des pesticides dans les eaux naturelles. Cependant, une comparaison stricte des résultats obtenus est délicate car, à conditions de stockage identiques, les cinétiques de dégradation des composés diffèrent selon les propriétés physico-chimiques des eaux. A titre d'exemple, on peut citer le travail de Brambilla *et al.* (1993) qui ont montré sur des eaux prélevées dans le fleuve Pô que les concentrations en atrazine restaient stables après un stockage de 32 jours. Lartiges (1994) a calculé que le temps de demi-vie de l'atrazine dans une eau de rivière filtrée et stockée à l'obscurité à 22°C était de 130 jours, et qu'aucune dégradation n'était observée au cours de six mois de stockage de cette eau à 6°C.

4. L'extraction des herbicides en phase dissoute

L'extraction préalable des composés organiques dissous dans une matrice aqueuse est nécessaire avant de procéder à leur détection. Elle est réalisée par diverses techniques régies par des phénomènes de partition des solutés entre la phase aqueuse et un solvant organique non miscible à l'eau (Extraction Liquide-Liquide = ELL) ou un sorbant solide (Extraction Liquide-Solide = ELS). L'ELL a été bien étudiée et constitue encore souvent la technique préconisée dans les recommandations des méthodes officielles de l'US-EPA (Barcelo, 1991, 1993). Le dichlorométhane ou le chloroforme sont les solvants les plus appropriés à l'extraction des herbicides de la famille des triazines (Chau et Afghan, 1982). Parce qu'elle présente de nombreux désavantages, l'ELL tend progressivement à être remplacée par l'ELS (méthode 525 US-EPA). Cette technique connaît un intérêt croissant en raison des possibilités nouvelles qu'elle offre (grande variété de phases adsorbantes, automatisation et développement de systèmes en ligne, miniaturisation, utilisation de solvant en quantité réduite). Par ailleurs, l'utilisation de sorbants solides permet un stockage des échantillons avant leur traitement sans apparition de phénomènes de dégradation (Liska *et al.*, 1989).

Analyse d'échantillons naturels

4.1. Procédure d'évaluation des performances des méthodes

La validation de nos résultats a été réalisée par l'évaluation statistique des performances analytiques des méthodes : les rendements d'extraction, la précision et la limite de détection ont été évalués. Le contrôle de la qualité des données peut s'effectuer dans certains cas par la comparaison d'un résultat avec une valeur certifiée. Pour les pesticides, il n'existe pas de tels matériaux de référence.

La précision de la méthode a été évaluée en analysant sept réplicats d'un échantillon par une même procédure analytique. La précision évalue l'incertitude d'une mesure, c'est à dire la dispersion (ou intervalle de confiance) existant autour d'une valeur donnée (la moyenne des valeurs dans notre cas). La notion de précision est différente de celle de justesse, qui ne peut être déterminée dans notre cas car elle suppose l'existence d'une valeur de référence connue (matériel certifié ou valeur obtenue par une méthode servant de référence).

Nous avons utilisé l'expression suivante de l'intervalle de confiance autour de la moyenne pour évaluer la précision de nos méthodes (Taylor, 1987) :

m ± (t x s) / n^{1/2}

où m est la valeur moyenne obtenue sur les n réplicats, t est la valeur du test de Student avec un risque alpha de 5%, et s l'écart type. Lorsque n= 7, le rapport t / $n^{1/2}$ est proche de l'unité, et l'intervalle de confiance peut être alors assimilé à l'écart type. C'est pourquoi nous avons choisi d'effectuer l'évaluation de la précision de nos méthodes sur sept réplicats.

La limite de détection d'une méthode est la plus petite concentration pouvant être déterminée comme étant statistiquement différente d'un blanc (Keith *et al.*, 1983). Pratiquement, on l'évalue en multipliant par un facteur k (on prend généralement k= 3) la valeur de l'écart-type du résultat obtenu pour un blanc ou pour un échantillon dont les teneurs en composés sont proches de la limite de détection prévue (Long et Winefordner, 1981; Taylor, 1987).

L'évaluation statistique des performances des méthodes a été réalisée sur des échantillons naturels dopés. Deux méthodes d'extraction ont été évaluées : l'ELL au dichlorométhane et l'ELS sur résine XAD-2.

Dans un premier temps, les niveaux de concentration en herbicides ont été déterminés et moyennés sur n réplicats d'échantillons non dopés (n= 2-3). Ces valeurs moyennes ont été ensuite utilisées pour corriger les rendements obtenus sur les échantillons dopés.

55

Les échantillons d'eau filtrée ont été dopés avant extraction à l'aide d'une quantité connue d'un mélange d'herbicides dilués dans le méthanol. Les solutions de dopage contenaient un mélange des huit herbicides et des deux produits de dégradation suivants: DIA, DEA, tebutam, simazine, atrazine, terbuthylazine, alachlor, prometryne, metolachlor et pretilachlor, à des niveaux de fortification compris entre 80 ng.l⁻¹ et 200 ng.l⁻¹. Ces niveaux ont été choisis car ils sont proches des concentrations en herbicides habituellement rencontrées dans les eaux estuariennes. Les rendements d'extraction en DIA n'ont pu être évalués en raison de la présence permanente dans les blancs de manipulation d'un pic co-éluant avec ce produit (cf § 4.4).

Contrairement aux essais communément effectués sur des eaux de laboratoire, le fait de travailler sur des eaux naturelles permet d'intégrer à l'évaluation les effets de matrice inhérents aux échantillons naturels. Les caractéristiques physico-chimiques des eaux (pH, teneur en carbone organique) influent en effet sur l'efficacité d'extraction et la précision de la méthode (Steinheimer *et al.*, 1984). En ELS, une compétition pour les sites d'adsorption peut s'établir entre les composés et les analytes présents dans l'eau, conduisant à une saturation des sites et à une diminution des performances de la méthode (Gomez-Belinchon *et al.*, 1988 ; Di Corcia *et al.*, 1993).

Toutefois, on sait que les composés introduits artificiellement peuvent avoir un comportement analytique différent de ceux présents à l'état naturel dans les échantillons: ils constituent des composés à l'état dissous vrai, et peuvent être extraits de façon plus efficace que les composés liés à d'autres éléments organiques présents au sein de la matrice.

En plus de tenir compte des effets de matrice, l'évaluation des méthodes lorsqu'elle est effectuée sur des échantillons naturels intègre la variabilité due à l'échantillonnage: l'évaluation de l'ELL a par exemple été réalisée sur neuf échantillons de 20 litres prélevés pendant une durée d'une heure. Pour l'ELS, la variabilité due à l'échantillonnage est moindre, puisque les réplicats analysés sont issus de seulement deux stocks initiaux de 20 litres.

4.2. Evaluation des performances de l'ELL

L'évaluation statistique des performances de l'extraction liquide-liquide fut réalisée sur des échantillons de grands volumes (environ 20 litres) prélevés à la fin du mois de novembre 1993 sur la Charente au point de référence fluviale (Taillebourg). Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau lors du prélèvement étaient les suivantes : $T = 6^{\circ}$ C, pH = 8.1, salinité = 0.2, MES = 1.9 mg.l⁻¹, COP = 0.3 mg.l⁻¹, COD = 296 µmol.l⁻¹. L'extraction fut réalisée au dichlorométhane par trois ajouts de 700 ml chacun. Deux échantillons ont été dans un premier temps analysés sans être dopés, excepté par un étalon interne de rendement (cyprazine). L'absence de ce composé ou de tout autre produit co-éluant est vérifiée ensuite sur les autres réplicats, la cyprazine ne faisant pas partie du mélange d'herbicides utilisé pour l'évaluation de la méthode. On identifie dans l'échantillon non dopé la présence de DEA, simazine, atrazine et terbuthylazine. Les niveaux de concentrations moyens déterminés sur les deux réplicats sont présentés dans le tableau 2.5.

Composé	Concentration moyenne (n=2)	Ecart-type %
DEA	110	2
Simazine	67	12
Atrazine	83	10
Terbuthylazine	45	8

Tableau 2.5 : Niveaux de concentration (ng.l⁻¹) en herbicides déterminés par ELL sur deux réplicats d'un échantillon de 20 litres prélevé en novembre 1993 sur la Charente. Valeurs corrigées par rapport à la cyprazine.

L'évaluation statistique est ensuite réalisée sur sept réplicats dopés par le mélange des dix composés, à des concentrations variant de 80 ng.l⁻¹ à 194 ng.l⁻¹ selon les produits. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2.6.

Composé	Niveaux de dopage (ng.l ⁻¹)	Rendements moyens (± SD) %	Précision %
DEA	84	39 (±19)	43
Tebutam	92	98 (±2)	2
Simazine	86	89 (±4)	4
Atrazine	103	$102(\pm 7)$	6
Terbuthylazine	92	91 (±12)	12
Alachlor	154	105 (±1.5)	1
Prometryne	80	103 (±2)	2
Metolachlor	194	$100(\pm 4)$	4

Tableau 2.6 : Rendements moyens et précision obtenus par ELL sur un échantillon d'eau de rivière prélevé sur la Charente (n=7). Résultats corrigés par rapport à pretilachlor (valeur moyenne= 74%).

Les pourcentages moyens de récupération que l'on obtient sont compris entre 89% et 105% selon les herbicides. Ces rendements sont du même ordre de grandeur que ceux précédemment obtenus par différents auteurs (Lee et Stokker, 1986 ; Steinheimer et Brooks, 1984 ; Pereira et Rostad, 1990) sur un mélange de triazines extrait au dichlorométhane. L'écart-type obtenu sur nos mesures du rendement d'extraction varie de 1% à 12%. La valeur la plus élevée (12%) de la précision obtenue dans le cas de la terbuthylazine s'explique par l'existence d'un pic co-éluant avec ce composé dans les

blancs de manipulation (voir § 2.4.4). La présence de ce composé conduit à une moins bonne précision de l'intégration du pic chromatographique.

Les rendements moyens obtenus pour la DEA sont de 39%, et l'écart-type de 19%. Le faible pourcentage de récupération n'est pas inattendu lors d'une ELL de composés relativement plus polaires comme les produits de dégradation des triazines (Durand et Barcelo, 1989) : l'efficacité d'extraction par ELL est en effet d'autant plus faible que la différence des moments dipolaires entre le soluté et le solvant est élevée (Goldberg *et al.*, 1973).

Les résultats performants obtenus pour ce type d'extraction nous fournissent une méthode fiable pour l'analyse des herbicides dans des échantillons naturels de grands volumes, et nous permettent ainsi d'utiliser cette méthode comme référence pour la mise au point des techniques d'ELS. En revanche, l'étude des produits de dégradation des chloro-triazines nécessite le développement d'une méthode adaptée.

4.3. Evaluation des performances de l'ELS

Les performances de l'extraction liquide-solide sur résine XAD-2 ont été évaluées sur sept échantillons de trois litres d'eau de salinité 30 prélevés en baie de Seine en octobre 1993. Trois réplicats supplémentaires furent analysés pour déterminer les niveaux de concentrations présents initialement dans l'échantillon. On identifie la présence de DEA, simazine, atrazine et terbuthylazine à des concentrations de 8 ng.l⁻¹, 7 ng.l⁻¹, 11 ng.l⁻¹ et 5 ng.l⁻¹ respectivement. Les résultats corrigés par rapport à un étalon interne de rendement (pretilachlor) sont présentés dans le tableau 2.7. Un échantillon supplémentaire a été analysé sans ajout d'étalon pour s'assurer de l'absence de ce composé.

Composé	Concentration moyenne (n=3)	Ecart type relatif (RSD) %
DEA	8	5
Simazine	7	3
Atrazine	11	5
Terbuthylazine	5	19

Tableau 2.7 : Niveaux de concentration (ng.l⁻¹) en herbicides déterminés par ELS (XAD-2) sur trois réplicats d'un échantillon de 3 litres prélevé en novembre 1993 en baie de Seine. Valeurs corrigées par rapport au pretilachlor.

Les faibles niveaux de concentration en herbicides présents dans cet échantillon nous permettent de calculer la limite de détection de la méthode (3 x écart type). On obtient 1.2 ng.l⁻¹ pour la DEA, 0.6 ng.l⁻¹ et 1.7 ng.l⁻¹ pour la simazine et l'atrazine respectivement, et 2.9 ng.l⁻¹ pour la terbuthylazine.

Composé	Niveaux de dopage (ng.l ⁻¹)	Rendements moyens (± SD) %	Précision %
DEA	80	69 (±10)	13.5
Tebutam	88	$99(\pm 4)$	4
Simazine	82	94 (±3)	3
Atrazine	98	98 (<u>+</u> 4)	4
Terbuthylazine	88	99 (<u>+</u> 3.5)	3
Alachlor	147	99 (<u>+</u> 1)	1
Prometryne	76	98 (±1)	1
Metolachlor	162	98 (<u>±</u> 1)	1

Sept réplicats ont été ensuite dopés et extraits sur résines XAD-2. Les résultats des rendements d'extraction sont présentés dans le tableau 2.8.

Tableau 2.8 : Rendements moyens et précision obtenus par ELS sur un échantillon d'eau marineprélevée en baie de Seine en novembre 1993 (n=7). Résultats corrigés par rapport au pretilachlor(valeur moyenne = 71%).

Les rendements d'extraction moyens varient entre 94% à 99% selon les herbicides étudiés (hors produit de dégradation) ; la précision associée aux mesures est comprise entre 1% et 4%. Ces résultats sont sensiblement meilleurs que ceux obtenus par ELL. La plus grande précision obtenue pour cette méthode peut être expliquée en partie par le mode de prélèvement des réplicats: la variabilité due à l'échantillonnage est en effet plus réduite que dans le cas de l'ELS, puisque les réplicats analysés sont issus de seulement deux stocks initiaux de 20 litres.

Notre étude montre par ailleurs que les rendements d'extraction de la DEA sur les résines XAD-2 sont plus importants que ceux obtenus par ELL. On passe en effet de 39% de récupération dans le cas de l'ELL à 69% dans le cas de l'ELS. La précision est également meilleure pour ce composé en ELS (13.5%) qu'en ELL (43%).

Le développement de cette méthode au laboratoire et sa validation sur des échantillons naturels nous permet donc de proposer une méthode fiable pour l'étude des herbicides en milieu estuarien. Elle présente l'avantage par rapport à l'ELL d'être applicable aussi bien aux composés parents qu'à leurs produits de dégradation plus polaires, et constitue de ce fait une méthode de choix pour l'analyse de ces composés.

4.4. Blancs de manipulation

Lors de chaque série de manipulations, des contrôles appelés blancs de manipulation sont réalisés. Ils ont comme objectif de s'assurer que les composés recherchés ne sont pas introduits dans les échantillons au cours des différentes étapes de traitement, et d'identifier les contaminations pouvant interférer dans l'identification des

analytes. La réalisation de blancs de manipulations est une procédure indispensable à l'assurance de qualité des données (Keith *et al.*, 1983).

Les contrôles sont effectués sur une matrice exempte de contamination, dans notre cas l'eau bi-distillée. Ces contrôles doivent simuler au mieux ce qui se passe réellement lors du traitement des échantillons : nous avons donc réalisé les blancs dans des conditions identiques à celles dans lesquelles les échantillons étaient traités, en y incluant le maximum d'étapes. Dans la plupart des cas, les contrôles incluaient les étapes d'extraction et de concentrations. Les premières étapes étaient réalisées directement à bord des navires, à la fin de chaque campagne de prélèvements ; la suite des manipulations était effectuée au laboratoire.

Les blancs de manipulation que nous avons obtenus présentent tous globalement la même empreinte. Les pics détectés sont présents à des niveaux faibles. Le chromatogramme obtenu sur 15 litres d'eau bi-distillée extraite par ELL, concentrée 1.5 x 10⁵ fois et analysée en GC/NPD sur colonne DB5 est présenté sur la figure 2.7. A titre de comparaison, le chromatogramme d'une solution étalon d'un mélange d'herbicides à des concentrations comprises entre 500 pg.µl⁻¹ et 1150 pg.µl⁻¹ est représenté en trait pointillé sur cette figure. On distingue deux groupes de composés n'interférant pas avec les produits recherchés: l'un élue avec des temps de rétention inférieurs à 10 minutes (colonne DB5 de 30m), l'autre élue en fin de programmation à partir de 30 minutes. Ce dernier groupe de composés est parfois important lors de l'utilisation des résines XAD-2. Ces impuretés qui éluent en fin de programmation sur la colonne non polaire sont vraisemblablement des composés de masses moléculaires élevées. Un tel phénomène de contamination des extraits par différents composés organiques a été rapporté à plusieurs reprises lors de l'utilisation des résines XAD. Les résines conduisent à une contamination des blancs en alcanes, naphtalène, benzène-éthyle et acide benzoïque (James et al., 1981). Ces interférents sont probablement présents dans les interstices des billes constituant la résine ; ils sont susceptibles d'être introduits lors de la préparation commerciale de la résine (Junk et al., 1974). Certains sont dus à la dégradation physique de la résine.

Entre 10 et 30 minutes, deux pics sont systématiquement détectés dans les blancs (voir aussi § 5): un pic co-éluant avec la DIA, et un pic éluant juste après l'atrazine. Un pic co-éluant avec la terbuthylazine est également mis en évidence. L'identification des composés en CPG/SM n'a pu être réalisée en raison de leurs faibles niveaux de concentration.



Figure 2.7 : Chromatogrammes obtenus en GC/NPD pour un blanc réalisé par ELL sur 15 litres d'eau bidistillée concentrée 1.5x10⁵ fois (trait plein), et le mélange étalon d'herbicides (pointillés, signal+0.005V): (1) DIA (716pg), (2) DEA (496pg), (3) tebutam (546pg), (4) simazine (511pg), (5) atrazine (608pg), (6) terbuthylazine (545pg), (7) alachlor (915pg), (8) prometryne (476pg), (9) metolachlor (1006pg), (10) pretilachlor (1149pg).

Pour distinguer la part de contamination provenant des réactifs et des manipulations de concentration, de celle étant inhérente à l'eau bi-distillée, des analyses de dichlorométhane concentré sous évaporateur rotatif puis sous jet d'azote (passage à l'iso-octane) ont été effectuées. Le chromatogramme obtenu sur un volume initial de 200 ml de solvant concentré 10³ fois est représenté sur la figure 2.8. On y a superposé le chromatogramme obtenu sur une solution d'un mélange d'herbicides (trait pointillé).



Figure 2.8 : Blanc réalisé sur 200ml de solvant concentré 1000 fois et injecté en GC/NPD. Mélange étalon d'herbicides (pointillés: signal+0.02V): (1) DIA (409pg), (2) DEA (283pg), (3) tebutam (312pg),
(4) simazine (292pg), (5) atrazine (348pg), (6) terbuthylazine (311pg), (7) alachlor (523pg), (8) prometryne (272pg), (9) metolachlor (575pg), (10) pretilachlor (657pg).

Ces blancs présentent une contamination moins importante que celle observée sur l'eau bi-distillée. On y retrouve le pic co-éluant avec la DIA et le pic éluant juste après l'atrazine. Le pic de terbuthylazine n'apparaît plus.

4.5. Etude comparative de l'ELL et de l'ELS sur des échantillons estuariens

Deux études comparatives ont été réalisées sur des échantillons naturels prélevés le long du gradient de salinité des estuaires. Les résultats obtenus par extraction liquideliquide (ELL) et extraction liquide-solide (ELS) sur disque Empore (C18) ont été comparés sur des échantillons de l'estuaire de la Charente. L'étude comparative des résultats obtenus par ELL et ELS sur résine XAD-2 a été réalisée sur des échantillons prélevés sur l'estuaire de la Gironde.

Les extractions liquide-liquide au dichlorométhane et les extractions liquide-solide sur résine ont été réalisées sur des échantillons de grand volume (12-20 litres). Les extractions liquide-solide sur disque Empore ont été réalisées sur des volumes inférieurs à 4 litres.

4.5.1. Estuaire de la Charente : ELL et ELS sur disques Empore

Quelques études récentes rapportent l'utilisation de disques Empore (phase C18) pour l'extraction de pesticides dans des eaux naturelles (Barcelo *et al.*, 1993 ; Beltran *et al.*, 1993 ; McDonnel *et al.*, 1993). Par rapport aux cartouches d'extraction classiques, les disques Empore présentent plusieurs avantages: la plus grande surface offerte par ce type de conditionnement autorise un débit de percolation plus élevé, permettant ainsi d'augmenter la rapidité d'extraction (Barcelo *et al.*, 1993). De plus, ces disques ne relarguent pas de phase diméthyl-octadécyl-siloxane (Durand et Barcelo, 1993), alors que le sorbant des cartouches commerciales est source de contamination en divers silanols et siloxanes, et également en alcanes, alcènes et phtalates (Junk *et al.* 1988 ; Schuette *et al.*, 1990).

Conditions expérimentales

Les extractions liquide-solide sur disque Empore ont été réalisées sur huit échantillons prélevés dans l'estuaire de la Charente au mois de février 1992, à des salinités variant de 0 à 30. Chaque échantillon a été par ailleurs extrait par ELL sur des volumes compris entre 15 et 20 litres.

Les échantillons filtrés une première fois sur filtres GF/F (0.7µm) de 293mm ou 142mm de diamètre ont été filtrés une seconde fois sur filtres de 47mm de diamètre (GF/F) avant leur passage sur les disques. Cette étape a pour but de limiter la charge en particules résiduelles de l'eau, et ainsi d'accroître la vitesse et l'efficacité de l'extraction. Trois à quatre litres d'eau ont été extraits sous vide contrôlé de façon à obtenir un débit voisin d'un litre par heure au maximum. Un débit plus élevé entraînerait une diminution de l'efficacité d'extraction (Meyer *et al.*, 1993). En fait, le débit est contrôlé pour sa valeur maximale, mais non pour sa vitesse minimale.

Les solutés ont été désorbés par deux fractions de 10ml d'acétate d'éthyle. Selon les recommandations du fabricant, ce solvant apparaît comme convenable pour une large gamme de pesticides. Mills et Thurman (1992) ont par ailleurs montré sa capacité à désorber les analytes de façon sélective. Cependant, il semble qu'il puisse être à l'origine d'une contamination plus importante en phtalates (Junk *et al.*, 1988). Nous n'avons toutefois pas observé d'interférents importants en analyse par CPG/NPD.

Résultats

Deux herbicides de la famille des chloro-triazines sont identifiés dans les échantillons (simazine et atrazine), ainsi qu'un de leurs produits de dégradation (DEA). Les niveaux de concentration obtenus selon chaque méthode d'extraction sont présentés dans le tableau 2.9. Les résultats de l'ELL sont donnés en valeurs corrigées par rapport à un étalon interne

de rendement (cyprazine); cet étalon n'a pas été utilisé pour l'ELS. La quantification a été réalisée en CPG/NPD sur colonne non polaire (DB5).

	ELL	Salinité	ELS
Herbicides	DB5		DB5
Simazine	11		5
Atrazine	14	30.2	12
DEA	19		ng
Simazine	15		6
Atrazine	23	23.7	19
DEA	20		10
Simazine	19		6
Atrazine	31	20.6	24
DEA	27		10
Simazine	23		11
Atrazine	38	14.4	35
DEA	30		14
Simazine	35		10
Atrazine	57	4.7	30
DEA	80		33
Simazine	34		21
Atrazine	59	1.6	51
DEA	46		18
Simazine	33		18
Atrazine	56	0.7	46
DEA	49		39
Simazine	42		28
Atrazine	62	0.3	48
DEA	56		17

Tableau 2.9 : Niveaux de concentration (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine, et DEA obtenus selon deux méthodes d'extraction: ELL (extraction liquide-liquide) et ELS (extraction liquide-solide) sur disques Empore. Estuaire de la Charente, février 1992.

Les figures 2.9 a à 2.9 c montrent les résultats obtenus en ELL (symboles noirs) et ELS (symboles blancs) le long du gradient de salinité de l'estuaire. Sur ces figures, les niveaux de concentration en ng.l⁻¹ sont représentés en fonction de la salinité.



I

Figures 2.9 a à 2.9 c: Comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'extraction (ELL et ELS sur disques Empore) sur un profil réalisé sur la Charente en février 1992.

Par un test statistique de comparaison de deux échantillons (Wilcoxon), on met en évidence l'existence d'une différence significative à 5% entre les résultats des deux méthodes pour les trois composés (le test rejette l'hypothèse nulle de non différence, voir annexe 2). Les droites de régression calculées entre les résultats obtenus par ELL et ceux obtenus par ELS présentent des coefficients de détermination (r²) de 0.87 (significatif à 1%), 0.90 (significatif à 1%), et 0.73 (non significatif) pour la simazine, l'atrazine et la DEA respectivement. Les pentes des droites représentées en pointillés sur les figures 2.10 a à 2.10 c sont de 0.7 pour la simazine et l'atrazine, et de 0.4 pour la DEA.

L'examen quantitatif des niveaux de concentration montre que les valeurs obtenues pour les trois composés sont toujours plus faibles lorsque les échantillons ont été extraits sur disques Empore. D'autre part, les différences observées en moyenne entre les deux méthodes sont plus importantes dans le cas de la simazine et de la DEA (54%) que pour l'atrazine (20%).

Nous avons par ailleurs pu vérifier sur quelques échantillons que l'extraction des composés sur les disques n'était pas totale : on récupère dans l'eau extraite par ELL après passage sur disque entre 20 et 30% de la quantité totale de simazine présente initialement dans l'échantillon. Dans le cas de la DEA, ce pourcentage est de 60%. Ce résultat met en évidence la limitation de la méthode d'extraction sur C18 notamment dans le cas de la DEA : ce composé est encore moins efficacement retenu que la simazine.



Figures 2.10 a à 2.10 c : Comparaison des concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine et DEA déterminées par ELL (abscisses) et par ELS (ordonnées) sur disques Empore. En pointillés: droites de régression linéaire.

Discussion

Des interactions de type hydrophobe régissent le partage des composés entre la phase aqueuse et la phase solide du sorbant. Ces interactions sont d'autant plus importantes que les chaînes alkylées des solutés sont longues et ramifiées. Ainsi, la chaîne éthyle de la simazine formant moins d'interactions avec la phase C18 que la chaîne isopropyle (3C) de l'atrazine, la simazine est moins retenue que l'atrazine.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Mills et Thurman (1992) : ces auteurs ont en effet montré que la capacité d'adsorption de la phase C18 augmentait de façon logarithmique avec l'addition d'un groupement CH3, et était en général inversement proportionnelle à la solubilité aqueuse des composés. Ainsi, la capacité d'adsorption de la phase C18 croît dans l'ordre DIA < DEA < simazine < atrazine.

Le volume maximal d'eau pouvant être traité sans atteindre la limite de rétention du disque est souvent limitatif dans le choix d'une méthode d'ELS. Pour un même type de sorbant, il dépend de l'hydrophobicité des composés (et de la masse de sorbant utilisée). Dans le cas de composés polaires qui ont peu d'affinité pour la phase C18, ce volume est faible et l'efficacité de la méthode s'en trouve réduite. Selon l'étude de Barcelo *et al.* (1993), les rendements d'extraction obtenus sur disques Empore pour un litre d'eau de surface de rivière dopée à 1 mg.l⁻¹ sont pour la DIA et la DEA de 7% et 16% respectivement. Thurman *et al.* (1990) ont par ailleurs montré que les volumes à partir desquels 10% des composés n'étaient plus adsorbés étaient de 300 ml et 75 ml pour la DEA et la DIA respectivement, alors qu'ils étaient de 2000 ml et 1200 ml pour l'atrazine et la simazine, pour des solutions à 1 µg.l⁻¹, et un débit de percolation de 4 ml.min.⁻¹.

Le volume maximal peut toutefois être accru en augmentant la taille du disque, c'est à dire en fait la quantité de sites disponibles pour l'adsorption. Des disques de 90 mm de diamètre ont été récemment commercialisés à cet effet. McDonnel *et al.* (1993) montrent que ces disques permettent d'accroître le volume des échantillons jusqu'à 10 litres. Nous n'avons toutefois pas expérimenté ces disques en raison des faibles capacités d'adsorption de la phase C18 vis-à-vis des produits déalkylés.

Une désorption des composés se produit lorsqu'une saturation des sites intervient, c'est à dire lorsque le volume ou la quantité de solutés percolés augmente. Selon l'étude de Barcelo *et al.* (1993), aucun phénomène de ce type n'intervient pour les triazines lorsque quatre litres d'eau dopés à 0.25 µg.l⁻¹ ou 25 µg.l⁻¹ sont extraits. A des concentrations très faibles telles que celles retrouvées dans nos échantillons, un tel phénomène de saturation des sites d'adsorption n'est pas attendu. Toutefois, les échantillons que nous avons extraits percolaient au travers des disques avec des vitesses variables selon leur charge en matière organique ; un colmatage des pores est donc

susceptible de s'être produit dans certains cas, entrainant une diminution de l'efficacité de la méthode.

Cette technique d'extraction liquide-solide sur disque C18 n'apparaît donc pas adaptée à nos exigences analytiques, notamment en raison de la faible efficacité de la méthode pour les produits de dégradation des triazines. Il faut toutefois signaler que l'extraction liquide-liquide n'est pas non plus pleinement satisfaisante pour ce type de composés.

4.5.2. Estuaire de la Gironde: comparaison ELL et ELS sur résine XAD-2

Conditions expérimentales

L'extraction liquide-solide de quinze échantillons prélevés le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en juin 1993 a été réalisée sur colonnes de résine XAD-2. Le protocole que nous avons utilisé a été développé au laboratoire ; il est décrit au § 2.7. Les performances de la méthode pour des échantillons estuariens sont données au § 4.3. Pour chaque échantillon, une extraction liquide-liquide au dichlorométhane a été parallèlement conduite. Chaque type d'extraction (ELL et ELS) a été réalisée sur des volumes d'eau d'environ quinze litres.

Résultats

Les herbicides identifiés appartiennent à la famille des triazines (simazine, atrazine, terbuthylazine) et de leurs produits de dégradation (DEA), ainsi qu'à celle des acétanilides (métolachlor). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2.10. Les concentrations en ng.l⁻¹ sont exprimées en valeurs corrigées par rapport à un étalon interne de rendement (pretilachlor). La quantification a été réalisée en GC/NPD sur colonne non polaire (DB5).

	Sima (ng	azine .l ⁻¹)	Atra (ng.	zine l ⁻¹)	DI (ng	E A .l ⁻¹)	Terbut (ng	hylazine .l ⁻¹)	Métol (ng	achlor .l ⁻¹)
Salinité	ELL	ELS	ELL	ELS	ELL	ELS	ELL	ELS	ELL	ELS
0.1	161	158	349	351	70	97			90	92
0.3	222	226	416	385	64	79	70	91	110	135
1.0	263	244	446	448	71	78	103	100	145	149
4.0	276		501		44		104		115	
5.1		269		411		60		98		125
7.7	249	289	430	446	60	79			91	104
11.7	208		295		46		71		88	
13.2		186		292		52		74		82
17.5	157	163	218	226	34	67	54	62	58	62
19.5	141	121	190	178	39	48	52	54	61	56
24.4	113	111	136	135	31	50	48	47		
25.5	98	83	122	111	27	41	43	42	50	49
31.7	33	30	41	38	16	19				
33.0	20	20	25	25	12	14				
33.4	21	20	22	21	13	12				
34.0	15	16	16	19	9	10				
34.5	12	10	13	12	10	9		'		

Tableau 2.10 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Niveaux de concentration en simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine et métolachlor selon deux méthodes d'extraction: ELL et ELS sur résine XAD-2. Valeurs exprimées en ng.l⁻¹ corrigées par rapport au rendement en prétilachlor.

Les figures 2.11 a à 2.11 e montrent pour chaque méthode d'extraction (ELL en noir, ELS en blanc) la variation des niveaux de concentration des herbicides en fonction de la salinité.



Figures 2.11 a à 2.11 c: Comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'extraction (ELL en noir et ELS sur résine XAD-2 en blanc) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en juin 1993.

71



Figures 2.11 d et 2.11 e : Comparaison des résultats obtenus par deux méthodes d'extraction (ELL en noir et ELS sur résine XAD-2 en blanc) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en juin 1993.

L'analyse statistique des résultats par un test de rang de Wilcoxon met en évidence une différence significative à 5% entre les deux méthodes uniquement dans le cas de la DEA. Le test ne rejette pas l'hypothèse H_0 de non-différence pour les autres herbicides (atrazine, simazine, terbuthylazine, métolachlor). Les résultats des tests sont fournis en annexe 2.

La comparaison des résultats obtenus par les deux méthodes d'extraction établit l'existence d'une corrélation significative à 0.1% pour chacun des composés. Les droites

72

de régression linéaire que l'on obtient sont représentées en pointillés sur la figure 2.12. Les pentes sont proches de l'unité pour la simazine, l'atrazine, la terbuthylazine et le métolachlor (1, 0.9, 0.9 et 1.1 respectivement). Elle est de 1.3 pour la DEA.

Des écarts de salinité existent parfois entre deux points d'un même échantillon: ils sont dus aux variations s'étant produites au cours du prélèvement. Dans le cas particulier de la DEA, nous avons voulu vérifier que la différence significative existant entre les concentrations obtenues en ELL et en ELS était bien due à la méthode d'extraction utilisée et non à une variation des concentrations en rapport avec la salinité. Nous avons pour cela écarté les échantillons pour lesquels les salinités différaient de plus d'une unité (arbitrairement) : le test de comparaison mettait encore en évidence une différence significative (annexe 2).



Figure 2.12 : Comparaison des concentrations (ng.l⁻¹) metolachlor et terbuthylazine déterminées par ELL (abscisses) et par ELS (ordonnées) sur résines XAD-2. En pointillés: droites de régression linéaire.



Figure 2.12 : Comparaison des concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine et DEA déterminées par ELL (abscisses) et par ELS (ordonnées) sur résines XAD-2. En pointillés: droites de régression linéaire.

Au niveau chromatographique, il est intéressant de remarquer que d'un point de vue qualitatif, pour un même échantillon, les chromatogrammes obtenus en CPG / NPD après ELL sont identiques à ceux obtenus après ELS. Ceci indique que les deux méthodes d'extraction possèdent la même sélectivité.

Conclusion

Les niveaux de concentration en DEA obtenus après l'ELS des échantillons sur résines sont plus élevés que ceux obtenus par ELL. Ceci confirme les résultats que nous avons obtenus lors de l'évaluation des performances de la méthode d'ELS sur résine XAD-2 (§ 2.4.3) : cette évaluation avait en effet montré que le rendement de récupération de la DEA était plus élevé (69%) sur les résines XAD-2 que par une ELL classique (39%). Les interactions existant entre la DEA et le support sont donc plus importantes que les forces gouvernant le partage des composés entre le solvant organique et la phase aqueuse en ELL. Les interactions jouant un rôle dans l'adsorption des composés sur les résines XAD-2 sont essentiellement de type Van der Waals (Grieser et Pietrzyk, 1973).

La méthode d'extraction des herbicides sur résines XAD-2 que nous avons mise au point au laboratoire est donc tout à fait adaptée à nos études. Les bonnes similitudes observées entre les résultats obtenus par cette technique et par ELL pour des herbicides appartenant à différentes familles chimiques valident la méthode d'extraction sur résine. De plus, la meilleure efficacité d'extraction obtenue pour la DEA en fait une méthode de choix pour l'étude des produits de dégradation des triazines. Nous avons montré que cette méthode était utilisable sur des échantillons estuariens de grands volumes sans obtention d'interférants importants en CPG/NPD : par conséquent, cette méthode n'implique pas la mise en place d'une étape de cleanup, et permet d'atteindre des limites de détection faibles. De plus, notre protocole de conditionnement et de régénération des résines permet de s'affranchir des phénomènes de contamination habituellement rencontrés lors de l'utilisation de ces sorbants (James *et al.*, 1981 ; Junk *et al.*, 1974).

En plus des avantages relatifs aux techniques d'ELS, la mise au point de cette méthode présente des perspectives d'évolution intéressantes au niveau des possibilités de développement de l'automatisation des méthodes, par utilisation de ces résines sur des préleveurs automatiques in situ.

5. Mise au point d'une méthode de purification et séparation

La mise au point d'une procédure de purification et séparation est guidée par les composés que l'on souhaite isoler. Il s'agit en fait d'une chromatographie d'adsorption, gouvernée par des phénomènes d'adsorption et désorption se produisant entre un adsorbant solide et un éluant liquide. Les interactions acceptables entre les sites actifs du

support et les molécules d'un mélange sont des liaisons faibles de type Van der Waals ou des liaisons hydrogène. Aucune liaison covalente irréversible ne doit intervenir. Sur la silice, l'ionisation des groupes silanols est à proscrire pour ne pas faire intervenir des phénomènes d'échange d'ions.

La mise au point de notre méthode a porté sur le type et la quantité du sorbant utilisé, sur son pourcentage de désactivation, et sur le choix des solvants d'élution (volumes et composition des fractions). Deux supports de compositions différentes ont été testés au laboratoire: le Florisil (magnésie MgO et silice SiO) et la silice, chacun à différents pourcentages de désactivation (2% et 6%).

La difficulté principale que nous avons rencontrée a été de trouver un compromis pour retenir et éluer des composés de polarités différentes. La méthode 625 de l'US-EPA recommande l'utilisation du Florisil comme adsorbant pour les triazines. Cependant, cette méthode n'inclue pas les produits de dégradation des triazines. Dans le cadre de notre étude, il était important de mettre au point une méthode qui convienne à la fois à l'analyse des chloro-triazines et à celle de leurs produits de dégradation qui sont des composés plus polaires. Un des moyens d'obtenir une élution quantitative de composés polaires est d'utiliser des mélanges de solvants de plus grande polarité. La difficulté réside alors dans le risque de désorber la totalité des composés adsorbés par une élution avec un solvant trop polaire, auquel cas la purification n'est plus efficace.

La méthode que nous avons retenue utilise comme support la silice 70-230 Mesh désactivée à 6% d'eau. La silice de formule générale $(SiO_2)_xH_2O$, est un support comportant des groupes silanols (Si-OH) libres à l'état activé. En introduisant à cette silice une certaine quantité d'eau, on désactive partiellement les sites OH. La désactivation de la silice par l'eau augmente la migration des composés en diminuant leur volume d'élution (Aceves *et al.*, 1988).

La mise au point de la méthode a été réalisée sur une solution étalon du mélange d'herbicides et produits de dégradation suivants dilués dans l'iso-octane : DIA, DEA, tebutam, simazine, atrazine, terbuthylazine, alachlor, prometryne, cyprazine, metolachlor et pretilachlor. Une quantité donnée de ce mélange (450 µl) dans l'iso-octane était déposée en tête de la colonne de silice, et éluée par les 4 fractions suivantes : (I) 30 ml d'hexane, (II) 40 ml d'un mélange d'hexane et d'acétate d'éthyle à 25%, (III) 30 ml d'un mélange d'hexane et d'acétate d'éthyle à 25%, (III) 30 ml d'un mélange sur les fractions II et III dans lesquelles sont récupérés les composés qui nous intéressent sont présentés dans le tableau 2.11.

Analyse d'échantillons naturels

	Quantité		Différe	entes co	olonnes			
Composé	déposée (ng)	1 (%)	2 (%)	3 (%)	4 (%)	5 (%)	Moyenne (%)	Ecart type (%)
DIA	818	87	92	90	79	74	84	9
DEA	566	91	94	93	83	79	88	8
Tebutam	624	94	85	77	84	87	85	7
Simazine	585	92	94	88	90	90	91	3
Atrazine	695	94	94	86	91	93	92	4
Terbuthylazine	623	84	86	86	91	94	88	5
Alachlor	1046	82	82	79	87	92	84	6
Prometryne	544	80	81	11	56	38	53	56
Cyprazine	625				99	101	100	1
Metolachlor	1150	84	84	84	90	94	87	5
Pretilachlor	1313	86	86	87	92	96	89	5

Tableau 2.11 : Pourcentages de récupération de différents herbicides sur colonne de silice, $(2g., 6\% H_2 O)$ dans les fractions II + III (voir texte).

Les pourcentages moyens de récupération varient de 84% à 100 % selon les composés, excepté pour la prométryne (53%). Les résultats présentés sont obtenus sur quatre préparations de silice différentes. Les colonnes 1 et 2 ont été remplies avec une même préparation de silice, les colonnes 3 à 5 avec des préparations chacune différente. Les résultats obtenus présentent une variabilité plus importante entre les colonnes 3, 4 et 5 qu'entre les colonnes 1 et 2. Ces différences mettent en évidence la variabilité pouvant exister entre deux préparations différentes, et soulignent l'importance de vérifier les rendements de récupération sur chaque préparation. C'est pourquoi lors de chaque série d'échantillons, un test est systématiquement réalisé au moyen d'une solution étalon d'un mélange d'herbicides. Ce test permet de vérifier les pourcentages de récupération des composés et de détecter d'éventuels problèmes de contamination dus aux manipulations.

Les rendements de récupération obtenus pour la prometryne présentent une variabilité importante (11% à 81%). Ce composé appartient à la famille des méthylthiotriazines, qui possèdent un groupe S-CH₃ en C₂. Ce groupe peut se lier aux sites OH de la silice et ne pas être désorbé. La plus grande variabilité des pourcentages de récupération observée pour cet herbicide peut être attribuée aux variations de répartition de l'eau dans les différentes préparations.

Des blancs de manipulation sont régulièrement effectués par passage des différentes fractions de solvant sur les colonnes. Le chromatogramme représenté sur la figure 2.13 met en évidence dans ce blanc la présence de trois pics (notés a, b et c). Ces trois pics sont communs à l'ensemble des blancs de manipulation (voir § 4.4). On les retrouve dans

les fractions II et III après passage du mélange étalon sur la colonne. Un pic (b) co-élue avec la DIA; le rendement de récupération calculé sur ce produit (84%) a donc été vraisemblablement un peu surestimé. Le pic (c) élue juste après l'atrazine mais n'interfère pas dans la quantification de ce composé.





Les pourcentages de récupération obtenus indiquent que l'étape de cleanup peut être incluse à la procédure d'analyse sans entraîner de perte majeure des composés. Les résultats obtenus pour les produits de dégradation des chloro-triazines sont très satisfaisants (84% et 88% pour la DIA et la DEA respectivement), nous permettant ainsi de retenir cette méthode pour nos études.

78

6. Séparation des composés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à haute résolution

6.1. Généralités

La chromatographie est une technique visant à séparer les différents composés d'un mélange. La séparation s'effectue selon les affinités relatives des composés entre une phase stationnaire et une phase mobile.

En CPG, les différents constituants (appelés solutés) d'un mélange liquide sont vaporisés puis séparés en vue de leur identification et de leur quantification ultérieures. La phase mobile gazeuse joue le rôle de vecteur des solutés. Dans le cas de colonnes capillaires, la phase stationnaire déposée sur les parois internes d'un tube en silice fondue joue le rôle d'adsorbant. L'affinité des solutés avec la phase adsorbante détermine leur temps de séjour (ou temps de rétention) dans la colonne. Ces temps de rétention sont caractéristiques des composés: ils constituent leur critère d'identification.

Les avantages que cette technique présente sont dus notamment à la faible viscosité de la phase mobile (par rapport à la chromatographie en phase liquide) qui permet un coefficient de diffusion moléculaire élevé des solutés, augmentant ainsi la vitesse d'échange entre phase mobile et phase stationnaire. Cette propriété fait de la CPG une technique performante, offrant une efficacité importante (c'est à dire des pics fins) dans un temps d'analyse réduit. De plus, la CPG peut être couplée à de nombreux systèmes de détection à haute sensibilité, permettant ainsi d'atteindre des limites de détection faibles. Les principales limites à l'utilisation de la CPG concernent les composés analysables: ils doivent être volatilisables, et stables thermiquement.

Les seules interactions existantes se passent entre solutés et phase stationnaire, la phase mobile ne jouant qu'un rôle de vecteur. Ces interactions dépendent de la nature chimique des molécules du mélange et de celle des sites actifs de la phase. Elles doivent être réversibles afin de permettre un équilibre entre soluté en phase mobile et soluté adsorbé. Elles mettent en jeu des interactions faibles de types Van der Waals (forces de dispersion et forces dipolaires) et des liaisons spécifiques (liaisons H).

Le pouvoir séparateur de la CPG capillaire est très élevé, mais la probabilité que deux composés aient des coefficients de partage proches, et de ce fait éluent en même temps, n'est pas négligeable. De plus, les systèmes de détection couplés aux systèmes chromatographiques sont sélectifs mais non spécifiques, et les fausses identifications sont possibles. Si la spectrométrie de masse couplée à la CPG est maintenant utilisée en routine comme technique d'identification, l'utilisation en CPG de deux colonnes de polarités différentes constitue une méthode de confirmation supplémentaire tant sur le plan qualitatif que quantitatif.

6.2. Comportement chromatographique de divers pesticides sur deux colonnes de polarités différentes

Notre étude du comportement chromatographique de pesticides sur deux colonnes de polarités différentes présente, en plus de l'intérêt purement analytique, un intérêt pour la prédiction du comportement géochimique de ces composés dans l'environnement. Les processus intervenant dans la rétention de solutés sur une phase adsorbante en chromatographie sont en effet les mêmes que ceux régissant leur partition dans l'environnement (Brauman, 1986). Les facteurs de capacité k' obtenus en chromatographie liquide en phase inverse ont été utilisés par différents auteurs pour évaluer les log Kow de divers composés (Braumann, 1986 ; Finizio *et al.*, 1991).

Deux colonnes capillaires différant par la composition chimique de leurs phases adsorbantes ont été testées en CPG. La colonne de phase non polaire (DB5) est constituée en majeure partie de groupements méthyls, et de 5% de groupements phényl liés à un squelette siloxane (figure 2.14).

COLONNE DB5



Figure 2.14 : Composition de la phase adsorbante de la colonne DB5

La phase de la colonne DX4 présente un caractère plus polaire en raison de groupements polyéthylène glycol à 85% (figure 2.15).

COLONNE DX4



Figure 2.15 : Composition de la phase adsorbante de la colonne DX4

Les tableaux 2.12 et 2.13 donnent les temps de rétention de différents pesticides sur chacune des colonnes. Les programmations de température utilisées sont indiquées pour chaque colonne.

Les figures 2.16 et 2.17 montrent les chromatogrammes obtenus sur chacune des colonnes pour un mélange étalon de composés appartenant à différentes classes de pesticides. On peut notamment remarquer que la résolution obtenue pour les deux produits dé-alkylés des chloro-triazines (DIA et DEA) est bien meilleure sur la colonne polaire (figure 2.17) que sur la colonne non polaire (figure 2.16). De même, la simazine et l'atrazine sont mieux séparées sur la colonne polaire.

Composé	tr (min)	Composé	tr (min)
Eptc	8.49	Trietazine	15.76
Molinate	10.91	Secbumeton	16.62
DIA	12.79	Cyprazine	18.05
DEA	13.08	Met-parathion	18.45
Trifluraline	13.61	Ametryne	18.99
Tebutam	13.75	Prometryne	19.23
Dicloran	14.39	Terbutryne	19.86
Simazine	14.75	Fenitrothion	19.94
Prometon	14.89	Linuron	20.05
Carbofuran	14.89	Malathion	20.68
Atrazine	15.02	Metolachlor	20.84
Propazine	15.25	Cyanazine	21.12
Terbumeton	15.34	Parathion	21.15
erbuthylazine	15.75	Pretilachlor	26.42

DB5 Injecteur : 50°C / 250°C (120°C.min⁻¹)

Four : 50°C (1 min) / 150°C (15°C.min⁻¹) / 250°C (3°C.min⁻¹)

Tableau 2.12 : Temps de rétention de divers pesticides sur colonne non polaire (DB5).



Figure 2.16 : Chromatogramme obtenu en GC/NPD sur une colonne non polaire (DB5) pour le mélange de pesticides suivant: eptc (1), molinate (2), DIA (3), DEA (4), tebutam (5), simazine (6), atrazine (7), terbumeton (8), trietazine (9), cyprazine (10), méthyl-parathion (11), ametryne (12), prometryne (13), fenitrothion (14), malathion (15), metolachlor (16), parathion (17), pretilachlor (18). Les quantités injectées varient entre 671 pg et 2004 pg.

DX4 Injecteur : 50°C / 230°C (120°C.min-1)

Composé	tr (min)	Composé	tr (min)
Eptc	7.21	Prometryne	27.48
Molinate	11.12	Simazine	28.7
Trifluraline	12.87	Pretilachlor	29.18
Tebutam	14.06	Ametryne	29.45
Trietazine	22.21	Parathion	30.34
Terbumeton	22.6	Cyprazine	31.06
Metolachlor	24.53	DEA	32.22
Atrazine	26.57	DIA	34.54

-1) Fou

Tableau 2.13 : Temps de rétention de divers pesticides sur colonne polaire (DX4).



Figure 2.17 : Chromatogramme obtenu en GC/NPD sur une colonne polaire (DX4) pour le même mélange de pesticides que sur la figure 2.16. Les quantités injectées varient entre 950 pg et 4935 pg.

L'application et l'intéret de l'utilisation de ces deux colonnes pour l'analyse d'échantillons naturels sera examinée dans le § 6.4.

6.3. Discussion

Colonne non polaire

Au sein d'une même sous-classe de triazines (chloro-, methoxy- ou methylthio-), plus les chaînes alkylées des substituants en C_4 et C_6 ont un nombre élevé de carbones, plus le temps de rétention sur la colonne non polaire augmente. Ceci indique que des interactions à caractère hydrophobe se produisent entre les sites adsorbants de la phase stationnaire de la colonne et les molécules du mélange. Elles interviennent entre les groupements méthyls de la phase stationnaire et les chaînes alkylées des solutés. Ce sont des liaisons de type Van der Waals. Les groupements méthyls étant majoritaires (95%) sur cette colonne, ce sont ces interactions qui régissent principalement le partage.

De même, pour deux composés ayant un même nombre de carbones des substituants en C_4 et C_6 (et de mêmes masses moléculaires), le temps de rétention augmente lorsque les chaînes alkylées sont plus ramifiées. Par exemple, les temps de rétention de trois méthoxy-triazines de MW = 225.3 et dont les chaînes alkylées comportent six atomes de carbone au total augmentent de Prometon à Terbumeton et Secbumeton (structure des molécules en annexe 1).

L'examen de nos résultats montre qu'au sein d'une même sous-classe de triazines, une corrélation positive significative existe entre les temps de rétention sur la colonne non polaire et le logarithme du coefficient de partage octanol/eau des composés (figure 2.18).

Pour les chloro-triazines par exemple, il existe une relation linéaire entre le temps de rétention (tr) et le logarithme du coefficient de partage octanol / eau (log Kow) des composés, selon l'équation de régression suivante :

avec $r^2 = 0.98$ (significatif à 0.1%, F= 234) et n= 7. La droite de régression est représentée en trait plein sur la figure 2.18. Les valeurs de log Kow considérées dans les calculs sont indiquées dans le tableau 2.14 (Finizio *et al.*, 1991).

Composé	tr (min.)	log Kow
DIA	12.79	1.15
DEA	13.08	1.51
Simazine	14.75	2.26
Atrazine	15.02	2.61
Propazine	15.25	2.91
Terbuthylazine	15.7	3.06
Trietazine	15.76	3.07
Cyanazine	21.12	1.8

Tableau 2.14 : Temps de rétention et log Kow des chloro-triazines et produits déalkylés.



Figure 2.18 : Variation du temps de rétention des chlorotriazines sur colonne DB5 en fonction du logarithme du coefficient de partage octanol/eau (log Kow).

La cyanazine a été écartée de la droite de régression : le temps de rétention de ce composé (tr = 21.12 min.) sort des droites de régression calculées entre tr et log Kow. Il est
supérieur à la valeur attendue en utilisant l'équation de la droite, indiquant que les interactions entre cette triazine et la phase stationnaire sont augmentées. La molécule possède en C₆ un groupement C₌N qui confère à la molécule un caractère plus hydrophile : son coefficient de partage octanol / eau est faible (log Kow = 1.8) et sa solubilité aqueuse élevée par rapport aux autres chloro-triazines (171 mg.l⁻¹ à 20°C).

Pour l'ensemble des composés du tableau 2.12, les temps de rétention sont également corrélés significativement aux masses moléculaires (MM) sur la colonne DB5 (n= 28, r^2 = 0.45, significatif à 1%, F= 21). Ceci est dû au fait que les interactions en jeu sont des interactions dépendant essentiellement du nombre de carbones des groupes alkylés des molécules, donc de la MM.

Colonne polaire

Sur la colonne de phase plus polaire (DX4), les temps de rétention des chlorotriazines et les log Kow sont anti-corrélés (figure 2.19). Les temps de rétention sont d'autant plus faibles que la molécule présente un caractère lipophile (log Kow élevé). On a :

 $tr = -6.07 \times \log Kow + 41.6$

avec $r^2 = 0.98$ (significatif à 0.1%, F= 145, n = 5).



Figure 2.19 : Variation du temps de rétention des chlorotriazines sur colonne DX4 en fonction du logarithme du coefficient de partage octanol/eau (log Kow).

Les interactions qui gouvernent majoritairement la séparation ne sont plus seulement de type hydrophobe. Les groupes polyethylène-glycol (groupements OH) qui composent 85% de la phase stationnaire interagissent en effet avec les solutés par l'intermédiaire de liaisons H. Plus une molécule sera apte à former des liaisons H avec la phase stationnaire, plus elle sera retenue et plus son temps de rétention sera grand. Ainsi, les produits de dégradation déalkylés des chloro-triazines (DIA et DEA) sont plus retenus que les composés parents en raison de leur fonction amine primaire (NH₂) qui est plus apte à former des liaisons H que les amines secondaires des composés parents (Mills *et al.*, 1993). Le produit de dégradation di-déalkylé de l'atrazine, qui possède deux fonctions amines primaires, éluerait plus tard que la DEA et la DIA. Pour deux molécules ne différant que par la longueur et les ramifications de ses groupements alkylés, le temps de rétention diminue avec le caractère hydrophobe. Ainsi, la DEA dont la chaîne alkylée possède trois carbones (CH(CH₃)₂) élue avant la DIA qui possède un groupement éthyl.

Les relations significatives existant entre les temps de rétention des composés en chromatographie et les coefficients de partage octanol / eau des molécules permettent d'évaluer ces coefficients de partage (Finizio *et al.*, 1991 ; Braumann, 1986). Les Kow sont des indices du caractère hydrophobe des composés. Ils déterminent leur solubilité aqueuse, leur affinité avec la phase particulaire, leur facteur de bio-accumulation, ou encore leur capacité à franchir la membrane cellulaire. Ils gouvernent donc de façon majoritaire leur comportement dans l'environnement (Braumann, 1986).

6.4. Application à la quantification d'échantillons naturels : résultats comparés sur deux colonnes de polarités différentes

Nous avons comparé les résultats obtenus par quantification en CPG/NPD sur deux colonnes de polarités différentes (DB5 et DX4) le long d'un profil longitudinal réalisé sur l'estuaire de la Charente en février 1992. Les résultats obtenus sur chaque colonne pour la simazine, l'atrazine et la DEA sont présentés dans le tableau 2.15. Les chromatogrammes obtenus en CPG/NPD sur chacune des colonnes sont présentés sur les figures 2.20 (DB5) et 2.21 (DX4) pour l'échantillon prélevé à S = 1.3.

Echantillon	SIMAZINE		ATRAZINE		DEA	
Salinité	DB5	DX4	DB5	DX4	DB5	DX4
30.2	11	12	14	15	19	22
23.7	15	17	23	26	20	23
20.6	19	22	31	37	27	29
14.4	23	23	38	43	30	31
8.2	23	23	63	67	40	41
4.8	35	35	57	63	80	81
1.6	34	37	59	69	46	47
1.3	42	30	63	52	102	73
0.7	33	37	56	67	49	47

Tableau 2.15 : Résultats des quantifications réalisées sur deux colonnes de polarités différentes (DB5 et DX4) pour des échantillons prélevés dans l'estuaire de la Charente en février 1992. Concentrations en ng.l⁻¹ corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

Les quantifications effectuées sur la colonne non polaire (DB5) montrent une très bonne similitude avec celles réalisées sur la colonne polaire (DX4). Pour un même composé, le test statistique de comparaison de Wilcoxon ne fait apparaître aucune différence significative à 5% entre les deux séries de mesures.



Figure 2.20 : Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon d'eau (16 litres) prélevé sur l'estuaire de la Charente en février 1992. Les numéros des pics correspondent aux composés suivants : (4) DEA, (6) simazine, (7) atrazine, E.I. pour Etalon Interne (cyprazine).



Figure 2.21 : Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DX4 pour un échantillon d'eau (16 litres) prélevé sur l'estuaire de la Charente en février 1992. Les numéros des pics sont les mêmes que sur la figure 2.20 : (4) DEA, (6) simazine, (7) atrazine, E.I. pour Etalon Interne (cyprazine).

Sur la colonne polaire, la DEA (4) élue en fin de programmation, permettant une meilleure résolution de ce composé. La simazine (6) et l'atrazine (7) sont également mieux séparées sur la colonne polaire, mais la simazine présente une co-élution avec un autre composé sur cette colonne.

Le même type de comparaison effectué sur les échantillons de l'estuaire de la Seine prélevés en Octobre 1993 faisait apparaître dans le cas de la DEA une différence entre les résultats obtenus sur les deux colonnes. La présence d'un pic important éluant juste avant la DEA sur la colonne DB5 (figure 2.22) entraînait en effet une erreur sur la quantification de ce composé. La résolution obtenue sur la colonne DX4 pour la DEA (figure 2.23) nous a permis d'éliminer ce problème.



Figure 2.22 : Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon d'eau (14 litres) prélevé à Poses (Seine) en octobre 1993. ELS sur résine XAD-2. Les numéros des pics correspondent aux composés suivants: (2) DEA, (3) tebutam, (4) simazine, (5) atrazine.

Chapitre 2



Figure 2.23 : Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DX4 pour un échantillon d'eau (14 litres) prélevé à Poses (Seine) en octobre 1993. ELS sur résine XAD-2. Les numéros des pics correspondent aux composés suivants : (2) DEA, (3) tebutam, (4) simazine, (5) atrazine.

Nos résultats montrent donc que l'utilisation de deux colonnes de polarités différentes constitue un outil efficace de confirmation de l'identification et de la quantification de composés dans des échantillons naturels. Nous avons montré en particulier que la colonne polaire (DX4) était tout particulièrement adaptée à l'étude des produits de dégradation déalkylés des chloro-triazines: l'élution de ces composés en fin de programmation nous permet d'éliminer les problèmes de co-élution existant sur la colonne non polaire (DB5).

La possibilité de fausses identifications résultant de co-élutions a été mise en évidence par Koskinen *et al.* (1992) au sein d'échantillons naturels de sol et d'eau. Cette étude montrait la présence de composés co-éluant avec l'atrazine et la DEA sur des colonnes apolaires à peu polaires. L'utilisation d'une colonne polaire (phase polyéthylèneglycol) permettait dans ce cas de séparer efficacement ces composés.

7. Etude des caractéristiques du détecteur NPD

L'existence d'une grande diversité de composés organiques dans l'environnement (Maugh, 1978) et la nécessité pour les analystes de les détecter à des niveaux souvent très faibles dans les eaux naturelles a entraîné un besoin croissant de systèmes de détection qui soient sélectifs et sensibles. Certains détecteurs utilisés en CPG répondent à ces exigences.

Nous avons quant à nous étudié en détail les performances du détecteur NPD que nous avons utilisé au cours de nos études. L'examen de ces performances fera l'objet des paragraphes qui suivent. Après avoir rappelé les critères définissant la sélectivité de la réponse, nous examinerons plus particulièrement notre évaluation de la sensibilité et du domaine de linéarité du détecteur. La procédure de calibration et la stabilité de la réponse seront ensuite considérées.

7.1. Sélectivité de la réponse

Un détecteur est dit sélectif si les réponses obtenues pour deux types distincts de composés sont différentes de façon appréciable, arbitrairement d'un facteur dix (Dressler, 1986).

La sélectivité de la réponse du détecteur NPD est liée au débit d'hélium : pour un courant donné, la réponse obtenue pour une molécule azotée et/ou phosphorée passe par un maximum pour une certaine valeur du débit d'hélium, et décroît de part et d'autre de cette valeur (Dressler, 1986). L'optimisation du réglage du débit d'hélium en fonction de la sélectivité recherchée a été réalisée avec une solution commerciale (Varian) contenant le mélange d'un alcane (C17 à 4 µg.µl⁻¹) et des composés azotés et/ou phosphorés suivants: malathion (4 ng.l⁻¹), méthyl-parathion (2 ng.l⁻¹) et azo-benzene (2 ng.l⁻¹). Le critère utilisé pour le réglage du débit d'hélium est l'obtention d'un pic d'azobenzene au moins quatre fois plus grand que celui de l'alcane. Notre débit optimal d'hélium ainsi déterminé était de 4.5 ml.min.⁻¹.

Nous n'avons pas mené d'études spécifiques de la sélectivité du détecteur NPD. On peut toutefois citer les travaux de Patterson et Howe (1978), et les spécifications données par le constructeur (sélectivité vis-à-vis de l'azote : 10⁵ et 2.10⁵ vis-à-vis du phosphore, en gramme d'atome par gramme de carbone).

7.2. Sensibilité et bruit de fond : limite de détection instrumentale

La sensibilité d'un détecteur vis-à-vis d'un composé est définie comme étant la réponse obtenue par unité de masse (mole ou gramme) de ce composé. Elle est dépendante du courant appliqué à la bille (Patterson, 1978). L'augmentation du courant accroît également le bruit de fond du signal, et réduit la durée d'utilisation de la bille. Nous avons donc toujours cherché un compromis entre sensibilité, bruit de fond et durée de vie de la bille.

Le niveau de sensibilité du détecteur ne suffit pas à évaluer la quantité minimale détectable, qui est quant à elle relative au bruit de fond du signal. On définit ainsi la limite de détection instrumentale (LDI) comme étant la quantité minimale d'un composé donnant un pic chromatographique dont la hauteur est au moins égale à deux fois le bruit de fond (Dressler, 1986). Contrairement au minimum détectable relatif à la quantité du composé présente au niveau du détecteur, la LDI concerne la quantité injectée: elle varie aussi selon les caractéristiques du système (injecteur, colonne). C'est cette valeur qui pourra être déterminée expérimentalement.

Le chromatogramme présenté sur la figure 2.24 représente la réponse obtenue en CPG/NPD pour l'injection d'une solution étalon d'un mélange d'herbicides, pour des quantités injectées comprises entre 272 pg et 657 pg selon les composés, et un courant de 3.22 A. La sensibilité du détecteur calculée sur ce chromatogramme par le rapport du signal (en volt) à la quantité injectée (en gramme) est variable selon la famille chimique des composés: elle est comprise entre 9.10⁷ V.g⁻¹ et 10.10⁷ V.g⁻¹ pour les chloro-triazines, voisine de 6.10⁷ V.g⁻¹ pour leurs produits de dégradation, et de 1.10⁷ V.g⁻¹ pour les acétanilides.



Figure 2.24 : Réponse du détecteur NPD à l'injection en CPG sur colonne non polaire (DB5) du mélange d'herbicides suivant : 1. DIA (409 pg), 2. DEA (283 pg), 3. tebutam (312 pg), 4. simazine (292 pg), 5. atrazine (348 pg), 6. terbuthylazine (311 pg), 7. alachlor (523 pg), 8. prometryne (272 pg), 9. metolachlor (575 pg), 10. pretilachlor (657 pg). Courant : 3.22 A.

Le détail du bruit de fond enregistré en fin de programmation (25 à 35 minutes) pour cette injection de solution étalon est présenté sur la figure 2.25. Le bruit de fond d'un détecteur est défini comme l'ensemble des perturbations du signal n'étant pas dues à l'élution d'un composé (Dressler, 1986). Il est d'autant plus grand que le courant appliqué à la bille est élevé. La valeur du bruit de fond calculée sur le signal représenté sur la figure 2.25 est voisine de 2.8 10⁻³ V. Cette valeur représente l'amplitude maximale enregistrée sur le signal pour une période de dix minutes, en tenant compte des composantes du bruit à court et long termes (Dressler, 1986). (On parle de bruit de fond à court terme pour les perturbations dont la fréquence est supérieure à celle des composés et de bruit de fond à long terme pour les perturbations de fréquence équivalente à celles des composés). La dérive de la ligne de base enregistrée sur le signal entre 5 et 30 minutes est égale à 6.43 10⁻³ V.



Figure 2.25 : Détail du bruit de fond obtenu en CPG/NPD entre 25 et 35 minutes, pour un courant applicué à la bille de 3.22 A.

Les valeurs du rapport signal/bruit calculées dans ces conditions expérimentales varient entre 21 et 120 selon les composés (tableau A2.1 de l'annexe 2.). Les LDI calculées en considérant un signal égal à deux fois le bruit de fond sont comprises entre 6 pg et 55 pg selon les composés: elles sont par exemple de 6 pg, 10 pg et 55 pg pour l'atrazine, la DEA et le metolachlor respectivement (annexe 2). Ces quantités sont faibles: elles permettent donc de détecter les composés à des concentrations faibles. Les limites du domaine de linéarité du détecteur doivent toutefois être évaluées pour procéder à la quantification des composés.

7.3. Détermination du domaine de linéarité

La réponse d'un détecteur à une quantité de soluté injectée est de la forme :

$$R = k \times C^n$$

où R est la réponse du détecteur (évaluée par exemple par la surface des pics), C la quantité de soluté injectée, et k une constante. L'exposant n évalue la linéarité du détecteur: pour un détecteur parfaitement linéaire, n = 1.

Pour apprécier la linéarité d'un détecteur, on représente graphiquement la réponse obtenue (R) par unité de quantité de soluté injecté (C) en fonction du logarithme de cette quantité (Dressler, 1986 ; Dorschel *et al.*, 1989). Idéalement, R/C doit être constant (on a en effet R/C=k quand n=1). Par conséquent, lorsque la représentation graphique que l'on obtient suit une droite, on considère que le détecteur est linéaire. Par convention, on tolère une variation de +/- 5% autour de la réponse obtenue.

Nous avons testé la linéarité du détecteur pour des quantités injectées comprises entre environ 100 pg et 13000 pg pour les triazines et leurs produits de dégradation, entre 70 pg et 7000 pg pour les organo-phosphorés, et entre 180 pg et 18000 pg pour les acétanilides. Sur les figures A2.1 à A2.6 (annexe 2) sont représentés en abscisse les logarithmes des quantités injectées (log C en pg) et en ordonnée le rapport R/C, où R est la surface des pics et C la quantité injectée en pg. Les traits pointillés représentent les limites de l'intervalle de prédiction à +/- 5%. La réponse du détecteur est linéaire pour tous les composés dans la gamme des concentrations que nous avons étudiées.

La figure 2.26 montre la linéarité du détecteur dans le cas de l'atrazine. L'équation de régression linéaire entre R/C et log (C) présente un coefficient de détermination significatif à 0.1% ($r^2 = 0.92$, F= 87).



Figure 2.26 : Linéarité du détecteur NPD pour l'atrazine: variation du rapport réponse/quantité injectée (R/C) en fonction du logarithme de la quantité injectée.

7.4. Calibration de la réponse

Lors de chaque procédure de quantification des composés dans les échantillons, la réponse du détecteur est calibrée au moyen d'une série de solutions étalons d'un mélange d'herbicides. Des droites de calibration (ou droites d'étalonnage) sont systématiquement établies pour chaque série de 10 à 15 échantillons. Ces droites sont généralement déterminées avec 7 à 10 solutions étalons, dans une gamme de concentrations comprises entre 250 pg.µl⁻¹ et 5000 pg.µl⁻¹.

Les droites d'étalonnage que nous avons classiquement obtenues sont représentées sur les figures 2.27 à 2.32, pour des composés appartenant à diverses familles de pesticides. Sur ces figures, les quantités injectées en ng (C) sont représentées en ordonnée et les surfaces des pics (R) en abscisse.

95



Figure 2.27 : Droite de calibration obtenue en GC/NPD sur colonne non polaire pour la DEA. Courant appliqué à la bille : 3.2A.





Figure 2.28 : Droite de calibration obtenue en GC/NPD sur colonne non polaire pour l'atrazine. Courant appliqué à la bille : 3.2A.



Figure 2.29 : Droite de calibration obtenue en GC/NPD sur colonne non polaire pour le molinate. Courant appliqué à la bille : 3.2A.

TEBUTAM



Figure 2.30 : Droite de calibration obtenue en GC/NPD sur colonne non polaire pour le tebutam. Courant appliqué à la bille : 3.2A.

PARATHION



Figure 2.31 : Droite de calibration obtenue en GC/NPD sur colonne non polaire pour le parathion. Courant appliqué à la bille : 3.2A.



Figure 2.32 : Droite de calibration obtenue en GC/NPD sur colonne non polaire pour le malathion. Courant appliqué à la bille : 3.2A.

Les droites de calibration obtenues sur dix étalons montrent des coefficients de détermination (r^2) significatifs à 0.1% pour une gamme de concentration allant de $10^2 \text{ pg.}\mu\text{l}^{-1}$ à $10^4 \text{ pg.}\mu\text{l}^{-1}$ pour les triazines, amides (tebutam) et carbamates (molinate), et de 65 pg. μl^{-1} à 8500 pg. μl^{-1} pour les organophosphorés. La réponse du détecteur aux

organophosphorés (méthyl-parathion et parathion) s'éloigne de la droite de régression pour les fortes concentrations, traduisant une saturation de la réponse du détecteur.

Les coefficients de corrélation donnent un premier indice de la linéarité de la réponse, mais ne présument pas de façon absolue cette linéarité. On peut en effet parfois obtenir des coefficients élevés pour une réponse non-linéaire (Dorschel *et al.*, 1989 ; Philpott et Van der Merve, 1991). Par conséquent, le domaine de linéarité du détecteur doit être systématiquement déterminé selon la méthode décrite précédemment.

Les équations de régression linéaire de la forme $[C=b + a \times R]$ sont ensuite utilisées pour la quantification des échantillons. Les droites n'ont pas été forcées par zéro à l'origine: ceci entraine de plus grandes erreurs sur la quantification des composés présents en faibles concentrations. Nous avons donc toujours veillé à ne pas travailler dans la limite inférieure des droites de calibration.

Le coefficient b (intercept) des droites de régression donne la quantité de soluté injecté pour laquelle la réponse du détecteur serait nulle. Elle est par exemple de 320 pg pour la DEA et de 170 pg pour l'atrazine.

7.5. Stabilité de la réponse

L'étude de la réplicabilité de la réponse du détecteur NPD a été réalisée sur un mélange de composés appartenant à différentes classes d'herbicides: chloro-triazines (simazine, atrazine) et leurs produits déalkylés (DIA, DEA), méthylthio-triazines (prometryne), amides (tebutam), et chloroacétanilides (alachlor, metolachlor, pretilachlor). Cette étude évalue de façon globale la réplicabilité de l'injection, de la réponse du détecteur, et de l'intégration des pics chromatographiques. Elle a pour but de vérifier la stabilité du détecteur à court terme, au cours d'injections successives.

Un microlitre de solution étalon d'un mélange d'herbicides dissous dans l'iso-octane a été injecté de façon automatique huit fois consécutives. Les quantités d'herbicides injectées étaient comprises entre 272 et 657 picogrammes. Ces quantités sont proches des limites inférieures du domaine de linéarité du détecteur dans lesquelles nous avons travaillé. Les écart-types relatifs calculés sur les surfaces des pics sont indiqués dans le tableau 2.16.

Composé	Quantité injectée (pg)	Ecart type relatif ^{(a} RSD (%)	
DIA	409	0.9	
DEA	283	0.9	
Tebutam	312	0.7	
Simazine	292	0.9	
Atrazine	348	0.8	
Terbuthylazine	311	1	
Alachlor	523	2.3	
Prometryne	272	1.2	
Metolachlor	575	2.5	
Pretilachlor	657	2.7	

 Tableau 2.16 : Reproductibilité de la réponse du détecteur NPD pour une injection d'un microlitre d'un mélange d'herbicides.

(a) Ecart type relatif de la réponse du détecteur calculée sur la surface des pics.

La réponse du détecteur présente des écart-types relatifs variant selon les composés entre 0.7 et 2.7 %. Les valeurs les plus élevées sont obtenues pour les chloroacétanilides. Cette plus grande variabilité est probablement due non pas à l'intégration des pics chromatographiques elle-même, mais plutôt à une réelle variation de la réponse du détecteur vis-à-vis de ces composés. La répétabilité obtenue pour les chloro-triazines et leurs produits de dégradation est très bonne (inférieure à 1 %). Ces résultats mettent en évidence la stabilité de la réponse du détecteur NPD au cours du temps, lors d'une série d'injection.

7.6. Conclusion

De part sa très grande sélectivité et sa sensibilité élevée, le détecteur TSD apparaît comme un outil tout particulièrement adapté à l'analyse de molécules azotées et phosphorées à l'état de trace dans des échantillons naturels. Nos études démontrent que la détection de telles molécules au sein d'un mélange complexe de composés organiques est en effet réalisable sur des échantillons d'eau de grands volumes, sans procédure de cleanup préalable. Les échantillons de MES ont été généralement injectés sur ce détecteur après purification.

L'utilisation du détecteur NPD nécessite cependant des précautions particulières. Du fait de la sélectivité et de la sensibilité du détecteur vis-à-vis des atomes d'azote et de phosphore, les différents solvants organiques utilisés doivent en être exempts; leur degré de pureté doit être de très haute qualité (qualité pestipur ou atrasol - SDS, France). Par ailleurs, les phases de conditionnement et maintenance du détecteur doivent être réalisées et contrôlées avec soin.

8. Conclusions

L'utilisation de la CPG et de la détection sélective des molécules azotées et/ou phosphorées s'est avérée être une méthode de choix pour l'analyse quantitative des herbicides et de leurs produits de dégradation dans les échantillons naturels.

L'ELL au dichlorométhane n'est pas une méthode d'extraction sélective : ce solvant est en effet souvent choisi lors de la mise au point de méthodes d'extraction de composés appartenant à différentes classes (méthodes dites "multi-résidus", Lee et Chau, 1983). La sélectivité de notre détecteur NPD, couplée au pouvoir de résolution élevé de la CPG, nous a permis de quantifier les composés au sein d'échantillons naturels de grands volumes sans procédure de purification préalable. Les études antérieures menées sur des échantillons naturels de petits volumes extraits par ELL au dichlorométhane nécessitaient une purification avant la détection NPD (Lee et Stokker, 1986 ; Steinheimer et Brooks, 1984). Ceci démontre la très grande sélectivité de notre système de détection. La possibilité de traiter des échantillons de grands volumes nous a permis d'atteindre des limites de détection faibles.

La mise au point de la méthode d'ELS sur résines XAD-2 nous a permis d'étudier conjointement les chloro-triazines et leurs produits de dégradation. Cette technique est plus performante que l'ELL pour l'extraction simultanée de composés présentant une gamme de polarité plus étendue : elle s'applique aux produits de dégradation déalkylés des chloro-triazines et aux composés parents.

Nos recherches ont donc répondu aux besoins de développement de méthodes analytiques performantes pour l'étude du comportement géochimique du devenir des herbicides dans des échantillons estuariens.



VARIABILITE TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS EN PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LES CANAUX AGRICOLES DES MARAIS DE CHARENTE-MARITIME

1. Les canaux des Marais de Charente-Maritime	105
2. Contamination des eaux par les pesticides en phase dissoute	113
3. Les herbicides en phase particulaire	131
4. Conclusions	137



VARIABILITE TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS EN PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LES CANAUX AGRICOLES DES MARAIS DE CHARENTE-MARITIME

Résumé

La contamination des eaux de trois canaux d'irrigation des Marais de Charente-Maritime par les produits phytosanitaires a été suivie de mai 1992 à septembre 1993. Les prélèvements ont été réalisés sur les canaux de Marennes, Charras, et du Grand Garçon sur la base d'un prélèvement mensuel puis hebdomadaire en période d'épandage des produits.

Les canaux présentent une contamination pérenne en herbicides appartenant à la famille des chloro-triazines : la simazine et l'atrazine. Un de leur produit de dégradation, la DEA, est également présent tout au long de l'année. De façon plus transitoire et locale, d'autres composés appartenant à différentes classes de pesticides sont identifiés. Les concentrations en simazine, atrazine et DEA sont comprises entre 29 ng.l⁻¹ et 624 ng.l⁻¹, 50 ng.l⁻¹ et 7787 ng.l⁻¹, et 98 ng.l⁻¹ et 2973 ng.l⁻¹ respectivement. Le canal de Marennes présente des concentrations maximales en herbicides plus faibles que les deux autres canaux. Le canal du Grand Garçon présente les concentrations en atrazine et DEA les plus élevées. Pour l'atrazine, elles sont supérieures à 2000 ng.l⁻¹ de fin avril à fin juillet 1993.

Les niveaux de concentrations en herbicides sont plus élevés en période de traitement des cultures, ce qui signale un transport rapide des produits des zones d'épandage vers le milieu aquatique. Les pics de concentration en DEA sont enregistrés conjointement à ceux de l'atrazine, indiquant que la dégradation s'effectue rapidement. Le rapport DEA/atrazine (DAR) fournit un indice du temps de résidence de l'atrazine dans les sols avant son arrivée dans le milieu aquatique : il est plus élevé en période hivernale qu'en période de traitement des cultures.

En dehors des périodes d'épandage, les contaminants sont présents de façon pérenne : ils sont donc persistants dans l'environnement. L'existence de sources diffuses continues conduit à un niveau de base de contamination, qui est particulièrement mis en évidence hors des périodes d'épandage, et seulement pour les chloro-triazines. Selon les sites étudiés, il se situe entre 50 et 56 ng.l⁻¹ pour la simazine, entre 92 et 215 ng.l⁻¹ pour l'atrazine, et entre 122 et 167 ng.l⁻¹ pour la DEA.

L'atrazine et la DEA sont identifiés dans quelques échantillons de MES (Matières en Suspension) des canaux de Charras et Brouage. La part des composés associée aux MES est faible : elle est inférieure à 1% dans le cas de l'atrazine. Les log Koc calculés sont compris entre 2.77 et 3.47 pour l'atrazine.

Mots clés: Chloro-triazines, DEA, période d'épandage, DAR, log Koc.



VARIABILITE TEMPORELLE DES CONCENTRATIONS EN PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LES CANAUX AGRICOLES DES MARAIS DE CHARENTE-MARITIME

Ce chapitre présente les résultats obtenus dans le cadre du suivi mensuel réalisé de mai 1992 à novembre 1993 sur les canaux d'irrigation des marais de Charente-Maritime. On présente les différents produits phytosanitaires identifiés et leurs niveaux de concentrations dans les trois canaux étudiés (Marennes, Charras, Brouage). Les variations saisonnières des concentrations en herbicides sont examinées, ainsi que leurs relations avec les évènements pluviométriques. Le rapport DEA/atrazine (DAR) fait l'objet d'un point particulier. Les composés en phase particulaire sont identifiés sur un échantillon de sol agricole et sur les échantillons de MES. Le coefficient de distribution Kd et le coefficient de partage Koc de l'atrazine et de la DEA sont déterminés sur les échantillons de MES.

1. Les canaux des Marais de Charente-Maritime

1.1. Présentation du site

Le département de Charente-Maritime possède une SAU (Surface Agricole Utilisée) de 444 000 ha, dont 42 % sont occupés par les céréales, 16 % par les oléo-protagineux et 10 % par la vigne (données AGRESTE 1993). Outre l'activité agricole, le département possède une activité conchylicole importante. Le bassin de Marennes-Oléron produit annuellement 30 000 tonnes d'huîtres creuses <u>*Crassostrea gigas*</u> (Héral *et al.*, 1986).

Les marais de Charente-Maritime se situent au coeur des marais saintongeais, qui occupent 52 000 ha au sein de l'ensemble des Marais de l'Ouest (240 000 ha). Ces marais sont le siège d'une activité d'élevage extensif et d'une activité agricole axée principalement sur les céréales. L'orientation de la gestion des marais vers une activité agricole a nécessité d'importants aménagements hydrauliques, coordonnés au sein de l'UNIMA (Union Intersyndicale des Marais de Charente-Maritime) depuis 1954. Un important réseau de canaux a été par conséquent mis en place.

Le bilan hydrique étant largement excédentaire en période hivernale et déficitaire en été, une gestion des stocks d'eau s'avère nécessaire. Elle s'effectue grâce à des systèmes de drainage des îlots agricoles, à des vannes et des stations de pompage qui assurent le transit de l'eau dans le réseau des canaux. En hiver, l'eau est évacuée vers le bassin; cette vidange est parfois suivie d'une évacuation printanière. En été, les marais sont mis en eau. Des écluses empêchent par ailleurs l'intrusion d'eau salée en provenance du bassin de Marennes-Oléron (Giraud, 1992).

L'intensification de l'activité agricole entraîne une utilisation de produits phytosanitaires qui par lessivage et érosion des sols sont susceptibles d'être transportés vers le milieu aquatique. La juxtaposition des activités agricoles et aquacoles toutes deux utilisatrices des ressources en eau douce a donc suscité l'inquiétude des conchyliculteurs, par crainte d'une dégradation de la qualité des eaux du bassin, et aussi en raison du système de capture et largage des eaux au niveau des marais. L'impact des activités agricoles a notamment été évoqué par les conchyliculteurs lors des mortalités importantes d'huîtres observées en 1988 (IFREMER, 1989). Des réglementations ont été établies au niveau des volumes et périodes des lâchés d'eau douce. Des mesures d'aménagement ont été prises : des lagunes et fossés de décantation ont été créés afin d'allonger le temps de résidence des eaux de ruissellement avant leur arrivée en zone conchylicole, ceci dans le but de permettre une dégradation des produits. Toutefois, l'efficacité de ces aménagements n'a pas été étudiée ; les phénomènes de dégradation des composés dans les eaux n'ont pas été mis en évidence. D'autre part, notre propre expérience de suivi des concentrations en herbicides au cours du stockage au laboratoire d'un échantillon d'eau naturelle pendant une période de sept mois n'a mis en évidence aucun phénomène de dégradation des composés (Chapitre 2). Des réseaux de drainage enterré ont été par ailleurs mis en place.

Chaque canal draine des parcelles à vocation plus ou moins agricole, et sont gérés de façon indépendante. Les lâchés d'eau sont effectués de façon contrôlée, mais nous n'avons pas toujours pu obtenir de données précises sur les quantités et les périodes d'ouverture des canaux. L'obtention de telles données nous aurait permis de quantifier par les flux annuels de contaminants entrant dans le bassin de Marennes-Oléron (Marennes, Brouage) et dans la Charente (Charras).

Au vu de la problématique engendrée par la gestion agricole des marais et l'activité aquacole du bassin de Marennes-Oléron, il nous est apparu essentiel d'étudier l'impact des activités agricoles sur la qualité des eaux des canaux constituant une possible voie d'entrée de pesticides dans le bassin. Les objectifs de l'étude étaient d'identifier et de quantifier les composés présents, de déterminer au moyen d'un suivi temporel les variations des concentrations au cours de l'année, et d'obtenir ainsi des informations sur leur dynamique de transfert des zones agricoles vers le milieu aquatique.

1.2. Plan d'échantillonnage

Notre étude s'est déroulée sur des échantillons de deux litres d'eau prélevés sur trois canaux (figure 3.1) de Mai 1992 à Novembre 1993, sur la base d'un échantillonnage mensuel. Au moment du pic de concentration en produits phytosanitaires, un échantillonnage hebdomadaire a été réalisé (fin avril 1993 à fin juin 1993).

Les prélèvements ont été réalisés en collaboration avec le laboratoire côtier du centre IFREMER de la Tremblade. Les échantillons ont été prélevés en amont des vannes contrôlant l'évacuation des eaux.

Les échantillons ont été filtrés sur 0.7 µm et extraits au laboratoire de Nantes moins de 24 heures après le prélèvement. Les fractions dissoutes extraites par ELL et les MES ont été analysées en CPG/NPD, CPG/ECD et CPG/SM.

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux ont été également suivies : les valeurs de température, pH, salinité, oxygène dissous (ml.l⁻¹) et turbidité (NTU = Unité de Turbidité Néphélométrique) ont été mesurées *in situ* ou au laboratoire de La Tremblade, les MES (mg.l⁻¹) et COP (mg.l⁻¹) ont été mesurées au laboratoire de Nantes et le COD (µmol.l⁻¹) à Brest (IFREMER).

Les relevés pluviométriques ont été recensés par décades pour la période couvrant notre étude à partir des bulletins mensuels climatologiques de la Charente-Maritime. Les données concernant le canal de Charras prennent en compte deux stations de relèvement (Muron et St Laurent), et pour Brouage la station de Moëze. Pour la période de notre étude, on ne note pas de différence majeure des variations temporelles de la pluviométrie entre ces stations. D'autre part, Giraud (1992) ne signalait aucune différence significative des données climatiques entre les stations de Moeze et St Laurent sur une période de 10 ans (1980-1989). Nous pourrons donc utiliser l'un ou l'autre des relevés pour l'interprétation de nos données.



Figure 3.1 : Sites d'étude du suivi temporel de la contamination des canaux des Marais agricoles de Charente Maritime par les produits phytosanitaires. Les flèches indiquent les points de prélèvements.

1.3. Caractéristiques des canaux

Les caractéristiques physico-chimiques des eaux des canaux au moment des prélèvements sont données en annexe 3 (tableaux A3.1 à A3.3). Les figures 3.2 à 3.4 représentent les variations temporelles de ces caractéristiques.

Le canal de Marennes (24 km de long, 10 m de large) se jette en Seudre par le chenal de Marennes. Il traverse des marais non cultivés plutôt dédiés à l'élevage extensif. Il reçoit les eaux de la Charente par l'intermédiaire du canal de la Seudre à la Charente, les eaux de l'Arnoult dont le bassin versant couvre 30 000 ha de terres agricoles, et des canaux de Mérignac et de Broue. Au cours de notre période d'étude, les eaux étaient caractérisées par des salinités généralement inférieures à 1. Les valeurs des MES étaient comprises entre 2.4 et 13.7 mg.l⁻¹. Elles sont globalement plus faibles que dans les autres canaux, mais sont plus riches en carbone organique. Les valeurs du COD étaient comprises entre 250 et 1666 µmol.l⁻¹. Les caractéristiques des eaux de ce canal sont présentées sur la figure 3.2.

Trois lâchés d'eau chacun d'environ 150 000 m³ ont été réalisés au cours de notre étude, en Novembre et Décembre 1992.

Le canal de Charras (20 km de long, 10 m de large) se jette en Charente de façon ponctuelle, en fonction de l'ouverture d'une vanne contrôlée par l'UNIMA. Le canal dessert environ 18 000 ha cultivés sur le marais de Rochefort. Les eaux sont peu salines (S varie de 0 à 1.7). Les MES sont comprises entre 2.3 et 79.4 mg.l⁻¹; le COP varie entre 0.4 et 4.4 mg.l⁻¹. Le COD varie de 208 à 958 µmol.l⁻¹ (figure 3.3).

• Le canal du Grand Garçon (3,5 km de long, 2 à 3 m de large) communique avec le bassin M-O par l'intermédiaire du chenal ostréicole de Brouage. Il traverse le marais de Moeze (2130 ha) où sont cultivés maïs (58 % des cultures), tournesol (17%), pois (10%) et autres céréales (14%). Les lâchés d'eau ont lieu en principe tous les quinze jours. Les eaux sont caractérisées par des salinités plus élevées que sur les autres canaux (S entre 1.5 et 8.2), et une charge en particules importante (MES entre 17 et 135 mg.l⁻¹). Les charges en matière organique sont également élevées (COP de 1.7 à 16.4 mg.l⁻¹, COD de 417 à 1500 µmol.l⁻¹). Les variations temporelles de ces caractéristiques sont présentées sur la figure 3.4.





110

Chapitre 3

T, O2

pН

13

20





Les canaux agricoles des Marais de Charente-Maritime

111

Figure 3.4 : Variations temporelles des caractéristiques physico-chimiques des eaux du Canal du Grand Garçon (Brouage) (Mai 1992-Novembre 1993).



112

Chapitre 3

2. Contamination des eaux par les pesticides en phase dissoute

2.1. Nature des composés identifiés

Les composés identifiés en phase dissoute sont des herbicides appartenant essentiellement à la famille des triazines. La simazine et l'atrazine ainsi qu'un de ses produits de dégradation la déethylatrazine (DEA) sont présents tout au long de l'année dans les trois canaux. On relève également la présence de DIA mais de façon plus ponctuelle. Un herbicide de la famille des acétanilides est identifié de mai à juillet à Marennes et Charras : le metolachlor.

En ce qui concerne les autres pesticides, la présence de carbofuran (carbamate) est relevée de début mai à fin juin à Charras et Brouage (dès fin avril sur ce canal). Par ailleurs, c'est au niveau du canal de Brouage que l'on retrouve la plus grande variété de composés. On y identifie en effet au mois de mai, outre ceux cités précédemment, le diméthoate (organo-phosphoré), le lindane (gamma-hexachlorocyclohexane), ainsi qu'une autre chloro-triazine : la propazine. La présence de propazine n'est vraisemblablement pas due à une utilisation directe de ce composé sur les cultures, car il n'est pas répertorié dans l'index phytosanitaire 1994. Il est probable qu'il soit introduit dans le milieu conjointement à l'application d'atrazine : la propazine a été en effet identifiée dans une spécialité commerciale d'atrazine analysée en CPG/NPD et CPG/SM (annexe 3). Buser (1990) mentionne également la présence de propazine dans une préparation d'atrazine technique.

2.2. Niveaux de présence

Les variations des niveaux de concentrations en simazine, atrazine et DEA sont présentées dans les tableaux 3.1 à 3.3. Les résultats sont exprimés en concentrations corrigées par rapport à un étalon interne (prometryne ou cyprazine). Les échantillons d'eau ont été extraits par extraction liquide-liquide au dichlorométhane, sauf pour les échantillons de juin et juillet 1992 qui ont été extraits sur phase adsorbante C18 (disques Empore). Par conséquent, au vu des performances offertes par ce sorbant (voir chapitre 2), les données obtenues pour la DEA sur ces deux prélèvements ne seront pas considérées comme quantitatives dans l'examen des résultats.

• Canal de Marennes : les concentrations varient de 29 à 217 ng.l⁻¹ pour la simazine, de 63 à 719 ng.l⁻¹ pour l'atrazine et de 109 à 301 ng.l⁻¹ pour la DEA (tableau 3.1).

MARENNES	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)
18-Mai-92 16-Jun-92	200 60	407 205	136 54
15-Jul-92	59	202	nq
21-Sep-92	131	142	133
20-Oct-92	51	90	109
25-Nov-92	98	458	109
21-Déc-92	48	151	283
26-Jan-93	39	79	250
22-Fév-93	29	63	116
22-Mar-93	69	65	117
26-Avr-93	50	69	149
03-Mai-93	78	116	200
10-Mai-93	76	235	165
17-Mai-93	84	231	192
24-Mai-93	77	254	201
21-Jun-93	217	526	301
19-Jul-93	99	719	166
23-Aoû-93	71	304	289
15-Sep-93	79	139	176

Tableau 3.1 : Variations temporelles des concentrations en simazine, atrazine et DEA dans le canal de Marennes. Concentrations en ng.l⁻¹ corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

Les concentrations les plus élevées sont enregistrées en juin 1993 (simazine, DEA) ou juillet 1993 (atrazine), les concentrations minimales en février 1993 (simazine, atrazine) ou octobre-novembre 1992 (DEA). Les concentrations en métolachlor sur ce canal sont comprises entre 178 ng.l⁻¹ (10 mai 1993) et 104 ng.l⁻¹ (19 juillet 1993).

Trois lachés d'eau ont eu lieu au cours de la période de mai 1992 à mai 1993 : le 30 octobre (174 150 m³, 28 h), du 19 au 22 novembre (145 125 m³, 56 h), et du 1er au 7 décembre (134 375 m³, 75 h). En considérant que les concentrations soient restées stables entre le jour des prélèvements et l'ouverture du canal, et pendant l'ouverture, les quantités déversées dans le bassin sont comprises entre 9 et 14 grammes pour la simazine, 16 et 66 grammes pour l'atrazine, et 15 et 19 grammes pour la DEA selon la période considérée. Le prélèvement du mois de novembre a été effectué trois jours après la vidange du canal. On aurait pu par conséquent s'attendre à observer après cette évacuation soit à des teneurs stables si les apports étaient restés constants, soit à une diminution des concentrations en contaminants. Au contraire, les niveaux de présence en atrazine et simazine sont plus élevés, et le rapport DEA/atrazine plus faible (il passe de 1.2 à 0.2). Les eaux évacuées ont vraisemblablement été remplacées par une eau d'origine différente, caractérisée par des teneurs en herbicides plus élevés, et un rapport DAR plus

faible. Les teneurs en COD et MES de cette eau présentent également une forte augmentation.

• Canal de Charras : les variations temporelles des concentrations en simazine, atrazine et DEA sont présentées dans le tableau 3.2. Les niveaux de concentration les plus faibles sont enregistrés au mois de novembre pour les trois composés. Ils sont de 21 ng.l⁻¹, 50 ng.l⁻¹ et 64 ng.l⁻¹ pour la simazine, l'atrazine et la DEA respectivement. Les pics de concentration enregistrés en juin pour les trois composés sont de 624 ng.l⁻¹, 2970 ng.l⁻¹ et 825 ng.l⁻¹ respectivement. C'est sur ce canal que l'on retrouve les plus fortes concentrations en simazine. La présence de métolachlor est identifiée à partir du 3 mai 1993 et jusqu'au mois de juillet 1993 ; les concentrations déterminées les 3 mai 1993 et 19 juillet 1993 sont de 338 ng.l⁻¹ et 279 ng.l⁻¹ respectivement.

CHARRAS	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)
18-Mai-92	175	392	144
16-Jun-92	82	281	36
15-Jul-92	76	308	nq
21-Sep-92	126	248	146
20-Oct-92	51	136	99
25-Nov-92	75	199	139
21-Déc-92	37	171	160
26-Jan-93	31	56	118
22-Fév-93	32	54	114
22-Mar-93	31	50	100
26-Avr-93	117	145	98
03-Mai-93	304	887	223
10-Mai-93	308	1145	340
17-Mai-93	143	500	234
24-Mai-93	142	293	228
21-Jun-93	624	2970	825
19-Jul-93	236	1435	411
23-Aoû-93	125	566	348
15-Sep-93	92	313	237
30-Nov-93	21	50	64

Tableau 3.2 : Variations temporelles des concentrations en simazine, atrazine et DEA dans le canal de Charras. Concentrations en ng.l⁻¹ corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

• Canal du Grand Garçon - Brouage : c'est dans ce canal que sont enregistrées les plus fortes concentrations en atrazine et DEA (tableau 3.3 et figure 3.4). Elles atteignent 2973 ng.l⁻¹ pour la DEA, et près de 7800 ng.l⁻¹ pour l'atrazine au mois de juin 1993. Dans le cas de l'atrazine, les concentrations restent supérieures à 2000 ng.l⁻¹ de fin avril à fin juillet. Les teneurs les plus élevées en simazine (273 ng.l⁻¹) sont relevées au mois de juillet. Les concentrations minimales sont semblables à celles retrouvées sur les autres canaux: 17 ng.l⁻¹ pour la simazine, 106 ng.l⁻¹ pour l'atrazine et 122 ng.l⁻¹ pour la DEA.

Les fortes concentrations en atrazine et DEA observées en juillet 1993 sont rapidement suivies d'une diminution importante le mois suivant (17 fois pour l'atrazine, et 7 fois pour la DEA). Les concentrations en simazine diminuent d'un facteur 2. Cette diminution des concentrations en herbicides est probablement due à la vidange du canal. Elle s'accompagne d'une baisse du COD d'un facteur 3.

BROUAGE	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine DE (ng.l ⁻¹) (ng.l	
18-Mai-92	78	690	203
16-Jun-92	30	285	65
15-Jul-92	48	229	nq
21-Sep-92	80	106	122
20-Oct-92	62	290	170
25-Nov-92	87	200	172
21-Déc-92	34	133	149
26-Jan-93	30	212	143
22-Fév-93	38	240	163
22-Mar-93	40	497	179
26-Avr-93	65	2323	424
03-Mai-93	108	3791	1073
10-Mai-93	141	3207	891
17-Mai-93	253	6429	1090
24-Mai-93	256	5994	1052
21-Jun-93	233	7787	2973
19-Jul-93	273	6611	2375
23-Aoû-93	127	377	335
15-Sep-93	69	161	179
30-Nov-93	17	333	181

Tableau 3.3 : Variations temporelles des concentrations en simazine, atrazine et DEA sur le canal du Grand Garçon. Concentrations en ng.l⁻¹ corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

Comparaison des niveaux de contamination des différents canaux

Le tableau 3.4 résume les niveaux de concentration moyens enregistrés sur les trois canaux pour la période allant de septembre 1992 à septembre 1993. Nous avons distingué deux niveaux de contamination : l'un correspond aux concentrations les plus élevées (déterminées comme étant supérieures à la médiane des valeurs sur l'année) et est associé aux périodes d'épandage des produits. L'autre correspond aux niveaux de concentration en dehors de ces périodes. Selon les canaux, les valeurs moyennes des concentrations en période d'épandage ont été calculées de fin avril ou début mai 1993 à juillet ou août 1993. Dans ce tableau sont indiquées les moyennes obtenues en dehors des périodes d'épandage ; elles diffèrent peu des valeurs médianes.

	COMPOSE	MARENNES (ng.l ⁻¹)	CHARRAS (ng.l ⁻¹)	BROUAGE (ng.l ⁻¹)
Concentration	Atrazine	63	50	106
minimale	Simazine	29	31	30
	DEA	109	98	122
Concentration	Atrazine	719	2970	7787
maximale	Simazine	217	624	273
	DEA	301	CHARRAS (ng.l ⁻¹) 50 31 98 2970 624 825 1014 236 356 132 50 122	2973
Moyenne	Atrazine	360	1014	4580
épandage	Simazine	104	236	199
	DEA	213	356	1257
Moyenne	Atrazine	95	132	215
hors épandage	Simazine	51	50	56
	DEA	156	122	167

Tableau 3.4 : Comparaison des niveaux de concentration (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine et DEA dans trois canaux des Marais de Charente-Maritime de Septembre 1992 à Septembre 1993.

Pour chacun des trois composés étudiés, les concentrations minimales sont globalement du même ordre de grandeur dans les trois canaux. La concentration minimale en atrazine est toutefois plus élevée à Brouage (106 ng.l⁻¹). Les concentrations maximales les plus élevées sont enregistrées à Brouage pour l'atrazine (7787 ng.l⁻¹) et la DEA (2973 ng.l⁻¹), et à Charras pour la simazine (624 ng.l⁻¹). Le même phénomène est observé pour les concentrations moyennes en période d'épandage : la valeur la plus élevée pour la simazine est enregistrée à Charras. Ces observations sont probablement liées à la répartition des cultures au niveau des parcelles agricoles. Les fortes concentrations en atrazine observées dans le canal du Grand Garçon sont probablement liées à la prépondérance des cultures de maïs (58 % de la SAU) sur le marais de Moëze.

Pour un même composé, les concentrations moyennes hors période d'épandage sont du même ordre de grandeur dans les trois canaux, excepté pour l'atrazine à Brouage qui est plus élevée (215 ng.l⁻¹) que dans les autres canaux (95 ng.l⁻¹ et 132 ng.l⁻¹). Ces niveaux de concentrations définissent un niveau de base de la contamination.

2.3. Variations saisonnières des concentrations en triazines et DEA

Les variations temporelles des concentrations en simazine, atrazine, DEA et du rapport DEA/atrazine (DAR) sur les différents canaux sont présentées sur les figures 3.5 à 3.7.



Figure 3.5 : Variations temporelles des concentrations (ng.l-1) en simazine, atrazine, DEA, et du rapport DEA/atrazine (DAR) sur le canal de Marennes.

CANAL DE MARENNES




Figure 3.7 : Variations temporelles des concentrations (ng.l-1) en simazine, atrazine, DEA, et du rapport DEA/atrazine (DAR) dans le canal du Grand Garçon.

Les variations temporelles des concentrations s'effectuent globalement de façon conjointe pour l'atrazine et la simazine. Sur les trois canaux, les teneurs les plus élevées

CANAL DU GRAND GARCON (BROUAGE)

sont enregistrées pendant la période d'épandage des produits, les minima sont observés en saison hivernale.

Selon les informations que nous avons pu obtenir auprès des chambres d'agriculture, les traitements phytosanitaires débutent dans le cas des triazines dès le mois d'avril (en pré-semis) et jusqu'en juin-juillet (post-levée), ceci pouvant varier sensiblement d'une région à une autre en fonction des climats. En ce qui concerne notre étude, l'augmentation des concentrations en simazine et atrazine dans les eaux des canaux est enregistrée dès fin avril ou début mai. A Charras, les concentrations augmentent de 31 à 117 ng.l⁻¹ pour la simazine et de 50 à 145 ng.l⁻¹ pour l'atrazine entre fin mars et fin avril. Dans le canal de Marennes, l'augmentation des concentrations est visible à partir de début mai (prélèvement du 03 mai 1993). La comparaison des prélèvements effectués à Brouage les 22 février et 22 mars 1993 montre l'existence d'une augmentation plus précoce de la teneur en atrazine, qui varie de 240 à 497 ng.l⁻¹ dans les eaux de ce canal entre ces deux dates.

Sur le canal de Charras (figure 3.6), les prélèvements effectués les 17 et 24 mai 1993 montrent une baisse des concentrations en atrazine, simazine et DEA par rapport aux niveaux de concentration encadrant cette période (10 mai et 21 juin 1993). Cette diminution rapide observée conjointement pour les trois composés peut être due à une ouverture de la vanne du canal, entraînant ainsi l'évacuation des eaux vers la Charente, et leur remplacement par une eau d'origine et de caractéristique différentes. L'observation des caractéristiques physico-chimiques des eaux conforte cette hypothèse : une forte baisse des teneurs en COD est enregistrée les 17 et 24 mai 1993 par rapport aux prélèvements des 10 mai et 21 juin.

Les relations temporelles existant entre l'épandage et l'arrivée des contaminants en milieu aquatique sont fonction de la proximité des cultures et des canaux recevant les eaux de lessivage des sols. Ainsi, dans le canal de Marennes (figure 3.5), l'apparition de l'augmentation des teneurs en pesticides est plus tardive (début mai) que sur les autres canaux (fin mars ou fin avril). Le canal de Marennes n'est pas situé en zone agricole ; il reçoit les apports en eau et contaminants venant de terres agricoles plus en amont, au niveau des bassins versants de la Charente et de l'Arnoult. De la proximité des traitements agricoles et des canaux collecteurs dépendent aussi les niveaux de concentrations maximales que l'on y retrouve : à Marennes, les maxima sont plus faibles qu'au niveau des autres canaux.

Les niveaux de concentration obtenus en période hivernale (de décembre à fevriermars), qui représentent les minima annuels, sont du même ordre de grandeur dans les trois canaux : ils sont autour de 30 ng.l⁻¹, 50-100 ng.l⁻¹ et 100 ng.l⁻¹ pour la simazine, l'atrazine et la DEA respectivement. La présence des composés en dehors de la période d'épandage montre que les produits sont assez rémanents dans les sols pour être présents

d'une année à l'autre, et qu'ils sont mobiles. En dehors des périodes de traitement des cultures, l'amplitude de variation des concentrations est moins importante qu'au moment de l'épandage. Ces résultats indiquent qu'en dehors des périodes de traitement, les apports se font sous forme de sources continues et diffuses. L'influence de sources ponctuelles locales se manifeste en effet plutôt par des amplitudes de variation plus importantes.

La concomitance des périodes d'application et des fortes teneurs en produits phytosanitaires indique que le transfert de ces produits des zones d'épandage vers le milieu aquatique s'effectue rapidement. Il est impossible de faire la part des composés provenant directement des cultures adjacentes aux canaux de ceux issus de zones plus en amont. La complexité du réseau hydrographique des canaux rend encore plus difficile l'identification d'une source de contamination. Toutefois, les plus faibles teneurs obtenues sur le canal de Marennes, (qui comme on l'a précisé n'est pas en communication directe avec des zones agricoles), comparativement à celles des autres canaux, tendent à indiquer qu'il existe effectivement un impact très local des zones agricoles sur la quantité de pesticides retrouvés dans les eaux. Ce phénomène est probablement favorisé par le système de drainage des parcelles agricoles.

Les résultats obtenus montrent que les trois canaux étudiés contribuent de façon différente à l'apport de pesticides dans le bassin de Marennes-Oléron, tant sur le plan qualitatif que quantitatif. Ainsi, les apports dus au canal de Marennes, situé dans la partie sud du bassin, sont comparativement les moins importants. Le chenal de Brouage constitue quant à lui une source importante en quantité et diversité des composés (figure 3.7). Ces résultats s'accordent avec ceux obtenus lors de notre étude de la contamination des eaux du bassin de Marennes-Oléron en mai 1991 (Chapitre 4). Cette étude mettait notamment en évidence l'influence des apports du chenal de Brouage sur les concentrations en herbicides des eaux du bassin, et montrait une contamination moins importante dans la partie sud du bassin sous influence de la Seudre et du canal de Marennes.

2.4. Produits de dégradation déalkylés, et rapport DAR (DEA/atrazine)

Au cours de notre étude, deux produits de dégradation de l'atrazine ont été identifiés dans les échantillons d'eau : la DIA et la DEA. Ces composés déalkylés peuvent être issus de processus de dégradation chimique ou biotique de l'atrazine et de la simazine sous l'action de micro-organismes (essentiellement bactéries et champignons), essentiellement dans les sols. La propazine peut être aussi à l'origine de DEA par coupure de la chaîne isopropyl, mais ce mécanisme n'est pas prépondérant car il présente une cinétique lente

(Mills *et al.*, 1994 b). Par ailleurs, la propazine est présente dans les sols en quantité moindre que celle de l'atrazine.

La DIA est identifiée sur quelques uns de nos échantillons seulement, et en quantité moins importante que la DEA. Ceci s'explique d'une part car le mécanisme préférentiel de dé-alkylation de l'atrazine est la dé-éthylation, la coupure des chaînes alkylées étant d'autant plus favorisée que les chaînes sont courtes et non ramifiées (Esser *et al.*, 1975, Mills *et al.*, 1994 b). D'autre part, la DIA est moins rémanente que la DEA car rapidement transformée en un produit de dégradation bi-déalkylé (DDA : Atrazine Di-Déalkylée) et/ou hydroxylé. La DIA est d'autre part moins bien extraite par l'extraction liquide-liquide au dichlorométhane que nous avons utilisée lors de notre étude (Durand et Barcelo, 1989). Les mécanismes préférentiels de dégradation de l'atrazine, la simazine, la DEA et la DIA dans les sols sont présentés sur la figure 3.8 (Mills et Thurman, 1994 b).



DDA

Figure 3.8 : Mécanismes préférentiels de dégradation de l'atrazine, la simazine, la DEA et la DIA (d'après Mills et Thurman, 1994 b).

La DEA est identifiée en phase dissoute de façon pérenne sur les trois canaux. Les concentrations varient de 109 à 289 ng.l⁻¹ à Marennes, de 64 à 825 ng.l⁻¹ à Charras et de 122 à 2973 ng.l⁻¹ à Brouage. Les plus fortes concentrations en DEA sont relevées à Brouage, où l'on retrouvait également les maxima en atrazine.

Sur les trois canaux, les valeurs maximales en DEA sont enregistrées en juin, conjointement aux valeurs maximales du composé parent. Ce résultat suggère d'une part que les processus de dégradation interviennent rapidement après l'application des produits parents, et d'autre part que le produit dé-éthylé est mobilisable et rapidement transporté des sols vers les eaux des canaux. A titre expérimental, nous avons pu vérifier l'absence de DEA dans une spécialité commerciale d'atrazine ("Atraphyt", Sipcam-Phyteurop) analysée en CPG/NPD et CPG/SM (les spectres de masse sont donnés en annexe 3). Ce résultat est bien sûr très ponctuel, mais permet dans un premier temps de constater que le produit déalkylé n'est pas appliqué conjointement au composé parent.

Si l'on examine maintenant le rapport DEA / atrazine (noté DAR pour DEA-Atrazine-Ratio), on constate qu'il est plus élevé hors période d'épandage qu'en période de traitement des cultures (tableau 3.5 et figures 3.5 à 3.7). Sur le canal de Charras, les valeurs du DAR sont généralement inférieures à 0.8 en période d'épandage et comprises entre 0.9 et 2 hors période de traitement (valeur médiane à 0.7). A Marennes, le DAR est globalement plus élevé (médiane à 1.1) : il atteint 3.2 au mois de janvier. Sur le canal de Brouage, les valeurs du DAR sont moins élevées (médiane à 0.37) que sur les autres canaux en raison des fortes concentrations en atrazine : le DAR est inférieur à 0.5 de mars 1993 à juillet 1993, et compris entre 0.59 et 1.15 en dehors de cette période. C'est sur ce canal que l'on retrouve les valeurs les plus faibles du DAR (0.17-0.18).

Le rapport DAR est utilisé comme un indice fournissant des informations sur le temps de résidence de l'atrazine dans les sols avant son arrivée dans les eaux de surface ou les eaux souterraines. En régime stationnaire, des valeurs du DAR plus élevées reflètent une augmentation du temps de séjour de l'atrazine dans les sols, permettant ainsi une possibilité de dégradation plus importante. Le rapport diminue lorsque des quantités d'atrazine "nouvelle" arrivent dans le ruilieu, donc à une période proche de l'application.

Le DAR a été aussi proposé comme étant un indice permettant de distinguer une source ponctuelle de contamination d'une source diffuse (Adams et Thurman, 1991). Les auteurs suggèrent que dans le cas d'une source ponctuelle, le DAR est inférieur à 1 en raison de l'entrée directe d'atrazine dans l'aquifère. Dans le cas contraire d'une source diffuse, le temps de séjour de l'atrazine est suffisamment long pour permettre sa dégradation, conduisant ainsi à des valeurs de DAR plus élevées.

	Marennes	Charras	Brouage
18-Mai-92	0.33	0.37	0.29
16-Jun-92			
15-Jul-92			
21-Sep-92	0.94	0.59	1.15
20-Oct-92	1.21	0.73	0.59
25-Nov-92	0.24	0.7	0.86
21-Déc-92	1.87	0.94	1.12
26-Jan-93	3.16	2.11	0.67
22-Fév-93	1.84	2.11	0.68
22-Mar-93	1.8	2	0.36
26-Avr-93	2.16	0.68	0.18
03-Mai-93	1.72	0.25	0.28
10-Mai-93	0.7	0.3	0.28
17-Mai-93	0.83	0.47	0.17
24-Mai-93	0.79	0.78	0.18
21-Jun-93	0.57	0.28	0.38
19-Jul-93	0.23	0.29	0.36
23-Aoû-93	0.95	0.61	0.89
15-Sep-93	1.27	0.76	1.11
30-Nov-93		1.28	0.54

Tableau 3.5 : Variations temporelles du rapport DEA/atrazine (DAR) dans les canaux de Marennes, Charras et Brouage.

La mise en évidence de la présence de DEA en quantités parfois supérieures à celles de l'atrazine souligne la nécessité de prendre en compte ce composé dans les études de contamination de l'environnement aquatique par les triazines. La perte de la chaîne alkylée n'entraîne en effet pas la perte totale des propriétés herbicides (Bodo, 1991 ; Winkelmann et Klaine, 1991).

2.5. Influence de la pluviométrie

Plusieurs études ont démontré l'influence des évènements pluvieux sur la quantité des produits phytosanitaires entraînés par érosion et/ou ruissellement des terres. Ces études ont souligné l'importance particulière du délai séparant l'application des pesticides des premières précipitations suivant cette application (Wauchope, 1978). Ainsi, la majeure partie des pertes par ruissellement se produit dans un délai de deux semaines après l'application, et cesse 4 à 6 semaines après l'application (Glotfelty *et al.*, 1984). Wauchope (1978) indique que la demi-vie de disponibilité de l'atrazine dans les sols pour un entraînement par ruissellement est de 7 à 10 jours. Cependant, Wu *et al.* (1983) ont observé une augmentation des concentrations en herbicides (atrazine et alachlor) dans les eaux de ruissellement en réponse à des évènements pluvieux hivernaux. La quantité de pesticide entraînée dépend également de l'intensité des événements pluvieux, et ce d'autant plus qu'ils interviennent rapidement après l'application (Sigua *et al.*, 1993). Un

orage intense intervenant dans les 24 heures suivant l'application d'atrazine peut conduire à une perte équivalant à 15% de la quantité appliquée (Pantone *et al.,* 1992).

Nous avons donc quant à nous voulu évaluer les relations existant entre les précipitations enregistrées sur les stations environnant les canaux et les concentrations en herbicides retrouvés dans les eaux. Les variations temporelles des précipitations sont présentées sur la figure 3.9 pour les stations environnant le Canal de Charras (St-Laurent et Muron). Une pluviométrie excédentaire de 50 à 100% par rapport aux normales est enregistrée pour les mois d'octobre et de novembre 1992 sur l'ensemble du département (Bulletin mensuel climatologique de la Charente Maritime).



Figure 3.9 : Précipitations (mm) enregistrées par décades sur les stations affectant le canal de Charras (Muron et St-Laurent). Données extraites du bulletin mensuel climatologique de la Charente-Maritime.

Les figures 3.10 à 3.12 présentent pour les trois canaux les variations temporelles des concentrations en herbicides et en DEA, simultanément aux variations des précipitations. Les relevés pluviométriques pris en compte sont ceux des stations de Muron et St-Laurent pour Charras, et ceux de Moëze pour Brouage et Marennes. Les courbes de précipitations sont représentées en valeurs mensuelles correspondant au cumul des valeurs par décade. Sur ces figures, les concentrations en herbicides du mois d'Août 1992 n'apparaissent pas car nous n'avons pas effectué de prélèvement à cette période.







Figure 3.10 : Canal de Marennes. Variations temporelles des concentrations (ng.l⁻¹) en atrazine, DEA, simazine, du rapport DEA/atrazine (DAR), et des précipitations (mm) enregistrées à Moëze.



Figure 3.11 : Canal de Charras. Variations temporelles des concentrations (ng.l⁻¹) en atrazine, DEA, simazine, du rapport DEA/atrazine (DAR), et des précipitations (mm) enregistrées sur les stations de St-Laurent et Muron.





Simazine

Précipitations



Figure 3.12 : Canal du Grand Garçon-Brouage. Variations temporelles des concentrations (ng.l⁻¹) en atrazine, DEA, simazine, du rapport DEA/atrazine (DAR), et des précipitations (mm) enregistrées à Moëze.

Dans les canaux de Charras et Brouage, les évènements de pluie des mois d'avril et juin 1993 sont accompagnés d'une augmentation des herbicides en phase dissoute dans les canaux, et également d'une augmentation de la DEA. A l'opposé, les niveaux de pluviométrie équivalents de l'hiver 1992 ne conduisent pas à ces augmentations. Ces résultats entraînent plusieurs constatations. Ils montrent d'une part que les quantités de produits qui sont mobilisables dans les sols le sont rapidement, qu'il s'agisse des composés parents ou de leur produit de dégradation. Par conséquent, la majeure partie des apports s'effectue en période de traitement des terres agricoles. D'autre part, pour cette même période, l'arrivée simultanée dans le milieu aquatique d'atrazine et de son produit de dégradation déalkylé indique que les processus de dégradation s'effectuent rapidement.

L'augmentation de la pluviométrie enregistrée en octobre et décembre 1992 s'accompagne de teneurs en MES plus élevées dans les eaux, indiquant un processus d'érosion plus important. Ce phénomène est probablement favorisé à cette période sur les sols nus des terres agricoles.

Une augmentation de la concentration en atrazine est observée dans l'échantillon prélevé le 25 novembre 1992 dans le canal de Marennes : elle passe de 90 ng.l⁻¹ le 20 octobre à 458 ng.l⁻¹ le 25 novembre. De façon conjointe, de fortes précipitations sont enregistrées au cours de la deuxième décade de ce mois. Cependant, les évènements pluvieux, lorsqu'ils interviennent plus de six semaines après l'application, n'entraînent pas de perte importante de pesticides par ruissellement (Glotfelty *et al.*, 1984). De plus, l'augmentation des précipitations étant similaire sur tout le département, on pourrait s'attendre à observer de plus fortes concentrations en herbicides sur les autres canaux qui sont eux directement entourés de terres agricoles. Une telle augmentation des concentration en atrazine en réponse à une pluviométrie plus importante ne semble donc pas expliquer nos observations sur ce canal.

2.6. Variabilité inter-annuelle

Le suivi que nous avons réalisé s'est déroulé sur plus d'un an de mai 1992 à novembre 1993 (septembre 1993 pour Marennes). Les résultats montrent une variabilité inter-annuelle des niveaux de contamination qui peut être importante. Le cas le plus manifeste est observé sur le canal du Grand Garçon : les concentrations en simazine observées en mai 1992 sont plus de trois fois plus faibles que celles obtenues à la même époque en 1993. Dans le cas de l'atrazine, elles sont neuf fois plus faibles. L'examen des données pluviométriques ne permet pas d'expliquer ces différences, les précipitations étant équivalentes entre les deux années. Sur les canaux de Marennes et Charras, les niveaux

de concentration rencontrés d'une année sur l'autre au mois de mai sont du même ordre de grandeur.

Les prélèvements des mois de juin et juillet 1992 présentent des concentrations en composés inférieures à celles enregistrées à la même époque l'année suivante. Les extractions des échantillons des mois de juin et juillet 1992 ont été réalisées sur disgues Empore. Ces disgues présentent un volume de fuite qui décroit lorsque la polarité des composés augmente Cette technique n'est donc particulièrement pas adaptée pour extraire les produits déalkylés des triazines. Nous avons nous-mêmes montré sur des eaux naturelles que les résultats obtenus par cette méthode d'extraction étaient significativement différents de ceux obtenus par ELL pour la DEA, mais aussi pour la simazine et l'atrazine (Chapitre 2). Le relarguage des composés intervient d'autant plus que les concentrations sont élevées et que les échantillons sont chargés en matière organique, en raison d'une saturation des sites d'adsorption de la phase C18. Il est donc envisageable qu'un tel phénomène soit à l'origine des plus faibles teneurs en herbicides obtenues en juin et juillet 1992, notamment à Charras et Brouage où les concentrations en herbicides sont les plus élevées. Toutefois, ceci n'explique pas les différences importantes enregistrées entre mai 1992 et mai 1993 sur le canal de Brouage, ces échantillons ayant été traités par extraction liquide-liquide. Des informations plus précises sur les variations inter-annuelles des pratiques agricoles au niveau local permettraient peut-être d'apporter une explication à nos résultats.

3. Les herbicides en phase particulaire

3.1. Contamination d'un sol agricole

Un échantillon de sol a été prélevé en surface d'une culture de maïs à la fin du mois d'avril 1993 dans une zone proche du canal du Grand Garçon (Marais de Moëze). L'extrait de 92 grammes (poids sec après lyophilisation) de ce sol a été purifié sur colonne de silice désactivée à 6 % d'eau. L'analyse en CPG/NPD des fractions II et III récupérées après la purification nous a permis d'identifier la présence de simazine et d'atrazine à 36 ng.g⁻¹ et 760 ng.g⁻¹ respectivement, et des deux produits de dégradation déalkylés DEA et DIA, à 131 ng.g⁻¹ et 88 ng.g⁻¹ respectivement (figure 3.13). L'identification des composés a été confirmée par CPG/SM en mode IE. La propazine est également identifiée dans cet échantillon. La présence de cette triazine dans le sol est probablement due à son application conjointe à celle d'atrazine : la propazine n'est en effet pas répertoriée dans l'index phytosanitaire de l'ACTA, et a été identifiée au sein d'une spécialité commerciale d'atrazine.

L'analyse en CPG/ECD de ce sol (fraction I) révèle la présence de lindane (gamma-HCH).



Figure 3.13 : Echantillon de sol prélevé en avril 1992 sur une culture de maïs proche du canal du Grand Garçon. Chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne non polaire (DB5), après passage de l'échantillon sur colonne de purification sur silice. E.I. pour Etalon Interne.

La valeur du rapport des concentrations atrazine/simazine dans cet échantillon de sol est de 21. Il est le reflet des différences de quantités appliquées sur les cultures. A la même période, dans les eaux du canal du Grand Garçon, le rapport atrazine/simazine en phase dissoute est de 35. Ceci indiquerait que l'atrazine, qui est plus soluble dans l'eau que la simazine (33 mg.l⁻¹ à 25°C contre 5 mg.l⁻¹ pour la simazine, serait plus susceptible d'être transportée vers le milieu aquatique, ou que la simazine est moins persistante que l'atrazine. Glotfelty *et al.* (1984) indiquent que la simazine et l'atrazine ne présentent pas de différence majeure de leur aptitude à être entraînées par ruissellement. Notre résultat obtenu sur un seul échantillon de sol est bien sûr difficilement généralisable.

Le rapport DEA/atrazine dans le sol en avril 1992 est de 0.17. Il est peu différent dans les eaux du canal (entre 0.18 et 0.28) à la même période. Les deux composés semblent donc entraînables de façon similaire. La présence simultanée de l'atrazine et des deux produits déalkylés DEA et DIA en quantités importantes montre que les processus de dégradation interviennent rapidement après l'application (la part des composés pouvant persister d'une année à l'autre dans les sols ne suffirait pas à expliquer les concentrations observées dans notre échantillon). Muir et Baker (1978) ont en effet montré qu'après l'application d'atrazine, la formation de DEA était rapide : un maximum de concentration en DEA était atteint en 7 à 10 jours après l'application.

La DIA présente dans le sol n'est pas identifiée dans les eaux à cette période. Ce composé est rapidement dégradé en composé bi-déalkylé (Mills et Thurman, 1994 b) : il possède par conséquent une persistance plus réduite que la DEA.

La mobilité verticale de l'atrazine dans les sols est limitée. Après l'application, la majeure partie du composé reste localisée en surface, et ne pénètre pas sous les premiers 20 à 40 cm selon le type de sol (Rhode *et al.*, 1981 ; Muir et Baker, 1978). Elle peut être diminuée en présence d'importantes quantités de matière organique (Pantone *et al.*, 1992). La quantité d'atrazine retrouvée en surface des sols agricoles au moment de l'épandage est dépendante des taux d'application du composé.

3.2. Herbicides associés aux MES : coefficients de distribution

Les MES récupérées lors de la filtration des échantillons (filtres GF/F de porosité 0.7 µm) ont été extraites au Soxhlet, et analysées (pour la plupart après purification sur colonne de silice) en GC/NPD sur deux colonnes de polarités différentes, ainsi qu'en CPG/MS. L'analyse sur la phase polaire de la colonne DX4 a permis de confirmer l'identification et la quantification des composés. Quelques échantillons ont été également injectés en CPG/ECD.

Les études précédemment menées sur la distribution des chloro-triazines entre phases dissoute et particulaire ont établi clairement que ces composés étaient essentiellement présents en milieu aquatique en phase dissoute. La part associée aux MES se situe autour de 1% au maximum en situation d'équilibre (Squillace et Thurman, 1992). Lors d'une étude menée sur l'introduction de triazines dans les Grands Lacs Canadiens, les matières en suspension analysées dans douze cours d'eau ne contenaient aucun résidu de triazine (Frank *et al.*, 1979 a).

En raison de la faible proportion de contaminants associés aux MES, nous avons choisi d'analyser seulement les échantillons à forte teneur en MES, et/ou dont les concentrations en contaminants présents en phase dissoute étaient importantes (tableau 3.6).

Echantillon	Date	MES mg.l ⁻¹	COP %	COP mg.l ⁻¹	Atrazine ng.l ⁻¹
BROUAGE	26 avril	26.3	40	10.4	2323
	03 mai	34.3	26	8.95	3791
	10 mai	52.6	23	11.9	3207
	17 mai	49.9	21	10.4	6429
	24 mai	35.8	24	8.8	5994
	21 juin	85.6	17	14.1	7787
	19 juil.	51.6	16	8.5	6611
	30 nov.	23.4	20	4.7	333
CHARRAS	10 mai	11.9	37	4.4	1145
	19 juil.	33.6	6	2.1	1435

Tableau 3.6 : Caractéristiques physico-chimiques des échantillons analysés

Ainsi, les échantillons prélevés à Brouage de fin avril à fin juillet et deux échantillons prélevés à Charras ont été analysés. Les volumes filtrés étaient autour de 3 litres. L'échantillon prélevé à la fin du mois de novembre 1993 à Brouage a été également analysé car il s'agissait d'un prélèvement de grand volume, permettant ainsi d'analyser une quantité importante de MES.

Un nombre très réduit de composés associés aux MES a été identifié. L'atrazine et la DEA sont identifiés à Charras et Brouage, parfois à des niveaux inférieurs à la limite de quantification. La présence de lindane est détectée en CPG/ECD dans quelques échantillons.

La figure 3.14 représente les chromatogrammes obtenus en CPG/NPD sur la colonne DX4 (30 m x 0.32 mm) pour une solution étalon d'un mélange d'herbicides (trait pointillé) et l'échantillon de MES (trait continu) prélevé à Brouage le 21 juin 1993, après passage sur colonne de silice (récupération des fractions II et III).

La figure 3.15 présente le chromatogramme obtenu en CPG/ECD sur colonne non polaire (DB5, 60 m x 0.32 mm) pour l'échantillon de MES prélevé dans le canal du Grand Garçon (Brouage) au mois de juillet 1993. Le chromatogramme correspond à la fraction l récupérée après passage de l'échantillon sur colonne de silice.



Figure 3.14 : Chromatogrammes obtenus en CPG/NPD sur colonne polaire DX4 pour l'échantillon de MES prélevé à Brouage le 21 juin 1993 (trait continu) et le mélange d'herbicides suivants (trait pointillé) : 1. DIA (1022 pg), 2. DEA (708 pg), 3. tebutam (780 pg), 4. simazine (731 pg), 5. atrazine (869 pg), 6. terbuthylazine (778 pg), 7. alachlor (1308 pg), 8. prometryne (680 pg), 9. metolachlor (1437 pg), 10. pretilachlor (1642 pg).



Figure 3.15 : Chromatogramme obtenu en CPG/ECD sur colonne DB5 (60 m x 0.25 mm) pour l'échantillon de MES prélevé à Brouage en juillet 1992. Fraction I récupérée après purification sur colonne de silice.

La distribution d'un composé entre phase particulaire et phase dissoute est évalué par le coefficient Kd. Nos Kd ont été calculés selon :

où Cpart. est la concentration du composé en phase particulaire (ng.g⁻¹) et C dissous la concentration du composé en phase dissoute (ng.ml⁻¹).

D'autre part, nous avons calculé le coefficient de partage Koc, normalisé par rapport à la teneur en carbone organique :

où COP est le pourcentage de carbone organique des particules.

Les résultats ainsi obtenus sur les 10 échantillons analysés sont présentés dans le tableau 3.7. Les concentrations en phase particulaire sont corrigées par rapport à un étalon interne (cyprazine) introduit avant l'extraction au soxhlet. Les rendements d'extraction sont indiqués dans le tableau 3.7. Toutes les quantifications ont été confirmées sur colonne polaire (DX4).

Rendement d'extraction (%)	Date	Herbicides identifiés	Cpart. atrazine ng.g ⁻¹	Composé part. (%)	log Kd	log Koc
BROUAGE						
96%	26 avril	atrazine	nq	1	1	/
108%	03 mai	atrazine	1066	0.96	2.45	3.03
		DEA	nq	1	1	1
99%	10 mai	atrazine	592	0.96	2.27	2.91
		DEA	nq	1	1	1
93%	17 mai	atrazine	nq	1	1	1
82%	24 mai	atrazine	nq	/	1	/
109%	21 juin	atrazine,	762	0.83	1.99	2.77
		DEA	459	1.3	2.19	2.97
95%	19 juil.	atrazine	928	0.72	2.15	2.93
	30 nov.	1	1	1	/	/
CHARRAS						
27%	10 mai	1	1	/	/	1
100%	19 juil.	atrazine	261	0.61	2.26	3.47
		DEA	nq	1	1	1

Tableau 3.7 : Composés identifiés en phase particulaire et coefficients de distribution (Kd, Koc) calculés.(nq pour non quantifiable).

La part d'atrazine associée aux MES est comprise à Brouage entre 0.72 % et 0.96 % de la quantité totale présente dans l'échantillon (dissous + MES). Pour l'échantillon prélevé au mois de juillet à Charras, elle est de 0.61 %. Ces quantités faibles sont en accord avec les données communément reportées dans la littérature. Les valeurs du log Koc que l'on obtient (entre 2.77 et 3.03 pour l'atrazine à Brouage) sont élevées mais restent dans la gamme de celles obtenues dans la littérature.

La DEA est identifiée dans quelques échantillons seulement, et quantifiée à Brouage au mois de juin. La concentration en phase dissoute était alors de 2973 ng.l⁻¹. Le pourcentage de DEA présent en phase particulaire est de 1.3 %. Ce chiffre est élevé comparativement au pourcentage correspondant en atrazine (0.83 %) sur ce même échantillon. Les données de la littérature indiquent que les produits de dégradation déalkylés sont moins susceptibles d'être adsorbés que l'atrazine : les valeurs de K_{oc} reportées dans la littérature sont en effet plus faibles pour ces produits de dégradation que pour les composés parents (Brouwer *et al.* 1990 ; Reddy et al, 1994).

Il convient de souligner le caractère exceptionnel des caractéristiques physicochimiques de ces prélèvements qui possèdent de fortes teneurs en MES riches en carbone organique, et des niveaux de concentration en atrazine en phase dissoute élevés (tableau 3.6). L'identification d'herbicides associés aux MES a été possible dans ces échantillons en raison de ces caractéristiques.

4. Conclusions

L'influence des activités agricoles sur les canaux des Marais de Charente Maritime se traduit par une contamination des eaux en composés appartenant à différentes classes de pesticides. Deux herbicides de la famille des chloro-triazines, l'atrazine et la simazine, sont présents de façon pérenne dans les canaux. Un des produits de dégradation de l'atrazine est également identifié tout au long de l'année. La majeure partie des herbicides identifiés est présente sous forme dissoute. L'atrazine et la DEA sont les seuls composés identifiés en phase particulaire : la part d'atrazine associée aux MES est toujours inférieure à 1 %.

Les canaux présentent des niveaux de contamination en composés herbicides qui diffèrent selon les sites considérés. Le canal du Grand Garçon présente les concentrations maximales en atrazine et DEA, les concentrations en simazine sont les plus élevées dans le canal de Charras, le canal de Marennes est le moins chargé en herbicides. Ces différences sont probablement liées à la distribution des cultures au niveau des parcelles agricoles.

Les niveaux de concentrations en herbicides sont plus élevés en période de traitement des cultures, indiquant un transport rapide des produits des zones d'épandage

vers le milieu aquatique. Ce phénomène est certainement accentué en raison du système de drainage mis en place sur les parcelles. Par ailleurs, les concentrations élevées en DEA sont enregistrées de façon conjointe à celles d'atrazine : la dégradation d'atrazine en DEA s'effectue donc rapidement. Le rapport DEA/atrazine (DAR) est plus élevé en dehors de la période d'épandage : il constitue un indicateur du temps de résidence de l'atrazine dans les sols.

Les zones cultivées adjacentes aux canaux constituent des sources ponctuelles de pesticides dans les eaux : les niveaux de concentrations sont plus élevés dans les eaux des canaux entourés de cultures (Charras, Brouage) qu'au niveau du canal de Marennes. Un apport de contaminants s'effectue également sous forme de sources diffuses continues : ces sources conduisent à un niveau de base de la contamination qui est, pour un même composé, du même ordre de grandeur quelque soit le site considéré. Ce niveau de base est particulièrement mis en évidence hors des périodes d'épandage, et seulement pour les chloro-triazines. La présence des composés tout au long de l'année montre leur rémanence dans l'environnement.

L'augmentation de la fréquence des prélèvements en période d'utilisation des pesticides nous a permis de préciser certains évènements. Sur le canal de Charras, l'échantillonnage hebdomadaire a mis en évidence une probable vidange du canal. L'affinement des fréquences de mesure s'est avéré particulièrement important en période d'épandage en raison des variations plus rapides des concentrations en pesticides se produisant alors.

De par le mode de gestion des ressources en eau des canaux, les apports de pesticides dans le bassin se font de façon pulsée au moment des lachés d'eau douce. Il nous a été difficile voire même impossible d'obtenir des informations précises sur les périodes d'ouverture et l'importance des lachés (sauf à Marennes), et par conséquent sur les quantités de produits déversés.

Des informations locales concernant les types de cultures pratiqués, les surfaces agricoles et les quantités de produits utilisés au niveau des petites régions agricoles fourniraient des éléments de réponse pour l'interprétation de nos données. La connaissance des volumes et périodes de lachés d'eau nous auraient permis de quantifier les flux en herbicides apportés à la Charente et au bassin de Marennes-Oléron.

COMPORTEMENT GEOCHIMIQUE ET TRANSPORT DES HERBICIDES EN MILIEU ESTUARIEN ET MARIN COTIER

1. L'estuaire de la Charente et le bassin de Marennes-Oléron	
2. L'estuaire de la Gironde	153
3. Le delta du Rhône	168
4. Séparation de la phase colloïdale par UFT	174



COMPORTEMENT GEOCHIMIQUE ET TRANSPORT DES HERBICIDES EN MILIEU ESTUARIEN ET MARIN COTIER

Résumé

La présence et les niveaux de concentration en herbicides ont été déterminés dans les eaux estuariennes et marines côtières des trois façades maritimes françaises à différentes périodes de l'année. Trois estuaires macrotidaux (Charente, Gironde, Seine) et un estuaire deltaïque (Rhône) ont été étudiés. Les herbicides identifiés en phase dissoute appartiennent à différentes classes de produits : triazines et produits de dégradation (simazine, atrazine, terbuthylazine, dé-éthylatrazine), amides (tebutam) et acétanilides (alachlor, metolachlor). Ces composés n'ont pas été détectés en phase particulaire. Deux chloro-triazines, la simazine et l'atrazine, sont présentes dans tous les échantillons et à toutes les périodes de l'année. Un des produits de dégradation de l'atrazine, la dé-éthylatrazine (DEA), est également identifiée de façon ubiquiste et pérenne. Les niveaux de concentrations sont dépendants des périodes d'échantillonnage et des sites considérés. Le rapport DEA/atrazine (DAR) est plus élevé en période hivernale qu'en période d'épandage des produits. Les concentrations en herbicides dissous diminuent de la zone fluviale vers la zone marine des estuaires. Toutes périodes confondues, elles sont comprises selon les sites entre 18 et 299 ng.l-1 et entre 35 et 591 ng.l⁻¹ en zone fluviale, et entre 5 et 13 ng.l⁻¹ et entre 4 et 14 ng.l⁻¹ en zone marine pour la simazine et l'atrazine respectivement. Les composés étudiés présentent un comportement de type conservatif au cours de la dilution estuarienne.

Mots clés : Triazines, acétanilides, amides, DEA, DAR, phase dissoute, période d'épandage, estuaires, comportement conservatif.



COMPORTEMENT GEOCHIMIQUE ET TRANSPORT DES HERBICIDES EN MILIEU ESTUARIEN ET MARIN COTIER

Ce chapitre concerne notre étude du comportement géochimique des herbicides au cours de leur transport vers le milieu marin côtier. Il détaille les résultats obtenus sur trois estuaires des côtes françaises à différentes périodes de l'année. On étudiera successivement l'estuaire de la Charente et le bassin de Marennes-Oléron, l' estuaire de la Gironde et enfin le delta du Rhône. L'estuaire de la Seine fera l'objet de l'étude du partage des composés entre la phase dissoute et la phase colloïdale.

1. L'estuaire de la Charente et le bassin de Marennes-Oléron

1.1. Présentation du site

L'estuaire macrotidal de la Charente

La rivière Charente s'étend sur une longueur de 350 km, traverse 6 départements, dont celui de Charente et celui de Charente Maritime constituent les deux principaux. Son bassin versant couvre une surface de 10000 km². Environ 75% de la surface totale, soit 750000 hectares sont occupés par des terres agricoles. Les céréales et les cultures

fourragères (dont 16% de surfaces toujours en herbe) occupent chacune environ 40% de la surface agricole utilisée (SAU). La vigne en occupe 10% (données AGRESTE, 1993).

La Charente se jette dans le bassin conchylicole de Marennes-Oléron en formant un estuaire de type macrotidal (amplitude de marée 5 m). Elle se caractérise par un débit moyen annuel peu important (46 m³.sec⁻¹ à Angoulême), et un débit d'étiage compris entre 5 et 8 m³.sec⁻¹ en année sèche. Les apports en eau de la Charente représentent 1% du débit total entrant dans le bassin. Le climat du bassin est de type océanique, avec une pluviométrie qui est en général forte d'octobre à mars, et faible d'avril à septembre.

Le bassin de Marennes-Oléron

Le bassin de Marennes-Oléron abrite une zone conchylicole importante. Il est limité à l'ouest par l'île d'Oléron et au nord par la Charente. Sa superficie varie de 50 km² à basse mer à 150 km² à marée haute (Gonzalez, 1992). Les apports continentaux viennent de la Charente dans la partie nord du bassin et de la Seudre dans la partie sud. La circulation des masses d'eau est caractérisée par une circulation résiduelle s'effectuant selon une direction Nord-Sud, et des zones tourbillonnaires dans la partie nord-est de l'île d'Oléron, ainsi qu'au niveau du pertuis d'Antioche. Les apports d'origine océanique arrivent au nord par le pertuis d'Antioche situé entre l'île de Ré et l'île d'Oléron, et sont évacués au sud par le pertuis de Maumusson. Le temps de résidence des masses d'eau dans le bassin varie de 5 à 10 jours selon le coefficient de marée (Bacher, 1989).

1.2. Campagnes de prélèvements

Trois campagnes de prélèvement ont été réalisées sur l'estuaire de la Charente et/ou le bassin de Marennes-Oléron, ainsi que dans la zone située au nord de l'île de Ré.

La première campagne réalisée en mai 1991 (Campagne "Gael 1" du 30 avril au 4 mai 1991) nous a permis d'effectuer une cartographie de la contamination des eaux par les herbicides, sur une zone allant de la baie de l'Aiguillon au nord de l'île de Ré, jusqu'au pertuis de Maumusson au sud de l'île d'Oléron (figure 4.1.1). Un profil longitudinal le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Charente a également été réalisé au cours de cette campagne.

Au cours de la campagne réalisée en février 1992 ("Gael 2"), les échantillons ont été prélevés le long du gradient de salinité de la Charente. Les points de référence fluviale ont été prélevés en amont à Taillebourg. Par ailleurs, les variations des niveaux de concentration ont été suivies pendant 24 heures sur un point fixe situé dans la rade de l'île d'Aix.

Les teneurs en herbicides ont été également déterminées sur quelques échantillons prélevés dans les eaux du bassin de Marennes-Oléron en juin 1993 (campagne "Tresterb", figure 4.1.2).

1.3. Variations spatiales des concentrations dans le bassin

La distribution spatiale des concentrations en simazine et atrazine dans les eaux côtières du bassin de Marennes-Oléron en mai 1991 est représentée sur la figure 4.1.1.



Figure 4.1.1 : Sites de prélèvements et distribution spatiale des concentrations en simazine et atrazine (ng.l⁻¹) dans les eaux estuariennes et côtières du bassin de Marennes-Oléron du 30 avril au 4 mai 1991 (Campagne "GAEL 1"). Munschy et al., 1993.

La présence de ces deux chloro-triazines est identifiée de façon ubiquiste dans tout le bassin, à des niveaux de concentrations variables. Plusieurs points sources intervenant dans la contamination des eaux sont identifiés. Ils sont liés aux apports des rivières et canaux d'irrigation. Les teneurs en herbicides sont moins importantes (entre 10 et 30 ng.l⁻¹) dans la partie sud qui se trouve sous l'influence des apports de la Seudre, dont le bassin versant est occupé par des zones dédiées plus à l'élevage qu'à l'agriculture. Au contraire, dans la partie nord et la partie centrale du bassin, les niveaux de présence en produits phytosanitaires sont plus importants. Le tableau 4.1.1 donne la gamme des concentrations rencontrées dans les différentes parties du bassin. Les concentrations en chaque point de la carte de la figure 4.1.1 sont fournies précisément dans le tableau A4.1 de l'annexe 4.1.

Les canaux de drainage des marais agricoles de Charente-Maritime constituent une voie d'entrée de pesticides dans le bassin (Chapitre 3). Ces canaux se déversent dans le bassin par l'intermédiaire de chenaux ostréicoles : leur influence se manifeste par des concentrations en herbicides plus élevées au niveau des chenaux que dans les eaux environnantes. Le canal de Brouage est le plus contaminé de la zone : des pesticides appartenant à diverses classes de composés y ont été identifiés en période d'épandage des produits (Chapitre 3). A la sortie du chenal de Brouage, les concentrations en simazine et atrazine sont respectivement de 94 ng.l⁻¹ et 146 ng.l⁻¹ pour une eau de salinité toutefois élevée (22).

SITE	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR
Baie de l'Aiguillon (S : 28-3)	85-125	75-141	25-38	0.23-0.33
Chenaux (S : 29-22)	32-94	31-146	11-29	0.2-0.35
Canaux de drainage (Faibles salinités)	91-287	171-251	111-121	0.44-0.71
Pertuis de Maumusson (S : 32)	14-18	19-23	6-7	0.33

Tableau 4.1.1 : Gamme des concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine, DEA, et valeurs du rapport DAR rencontrées dans les eaux côtières de Marennes-Oléron en mai 1991 (Campagne "GAEL 1").

Au mois de juin 1993, les concentrations en herbicides ont été suivies dans les eaux marines côtières du bassin, à des salinités voisines de 33. La position des points de prélèvements est indiquée sur la figure 4.1.2. Les points 22 et 23 ont été prélevés en rade de l'île d'Aix respectivement à basse mer et haute mer.





Les concentrations en herbicides sont en moyenne de 24 ng.l⁻¹ pour la simazine, et de 28 ng.l⁻¹ pour l'atrazine (tableau 4.1.2). Les teneurs en herbicides au niveau de la rade de l'île d'Aix sont plus élevées à basse mer (BM, point 22) qu'à haute mer (HM, point 23), en raison de l'influence des eaux de la Charente (voir aussi § 1.4). Elles varient en effet de 33 ng.l⁻¹ (BM) à 20 ng.l⁻¹ (HM) pour la simazine, et de 41 ng.l⁻¹ (BM) à 21 ng.l⁻¹ (HM) pour l'atrazine. Les concentrations en DEA dans le bassin sont comprises entre 12 ng.l⁻¹ et 17 ng.l⁻¹.

N° point (voir carte)	SITE	Salinité	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR
26	Antioche	33	20	26	12	0.5
25	Oléron	33.4	21	22	13	0.6
22 (BM)	Aix	31.7	33	41	17	0.4
23 (HM)	Aix	33.3	20	21	12	0.6
24	Ile Madame	32.7	26	28	16	0.6
20	Maumusson	32.7	26	27	12	0.4

Tableau 4.1.2 : Concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine et DEA, et valeurs du rapport DEA/atrazine (DAR) dans la bassin de Marennes-Oléron en juin 1993 (Campagne "TRESTERB"). Valeurs corrigées par rapport à un étalon interne de rendement (pretilachlor).

1.4. Mélange des eaux lors d'un cycle de marée

Les prélèvements ont été effectués en mai 1991 et février 1992 en un point fixe au niveau de la rade de l'île d'Aix. Cette zone se trouve sous l'influence directe des eaux de la Charente. Le premier prélèvement fut réalisé à marée basse, les suivants étant prélevés à raison d'un échantillon toutes les trois heures.

Les résultats des deux campagnes (mai 1991 : tableau A4.1.2 et juin 1992 : tableau A4.1.3) sont fournis en annexe 4.1. La figure 4.1.3 montre les variations des concentrations observées en février 1992. Les niveaux de concentration en simazine à marée basse sont trois fois plus importants qu'à marée haute (16-5 ng.l⁻¹). Dans le cas de l'atrazine, le facteur de variation est de 1.6 (de 19-12 ng.l⁻¹).



Figure 4.1.3 : Variation des concentrations en simazine et atrazine (ng.l⁻¹) dans la rade de l'île d'Aix au mois de février 1992 en fonction du cycle de marée (Campagne "GAEL 2").

Au mois de mai 1991, la variation des concentrations entre basse mer et haute mer était de 4.5 fois et 3 fois pour la simazine et l'atrazine respectivement. Les plus grandes variations observées au mois de mai s'expliquent d'une part en raison du coefficient de marée qui était alors moins élevé (84) qu'au mois de février (115), conduisant ainsi à un mélange des masses d'eau moins important. D'autre part, les niveaux de concentration des eaux de la Charente étant plus faibles en février qu'au moment de la période d'épandage (mai), les différences de concentration existant entre l'eau de l'estuaire et l'eau du bassin sont moins importantes.

Ces résultats mettent en évidence la contamination des eaux de salinité élevée (S > 30) par deux herbicides de la famille des chloro-triazines. Les eaux en provenance de la Charente sont diluées et mélangées avec les eaux d'origine océanique au rythme des cycles de marée. A marée basse, l'empreinte plus marquée des eaux de la Charente se manifeste par des concentrations en herbicides plus élevées dans les eaux du bassin.

1.5. Dilution dans l'estuaire de la Charente

Les échantillons ont été prélevés au cours d'une journée le long du gradient de salinité de la Charente en février 1992 (figure 4.1.4). Le point de référence fluviale est prélevé à Taillebourg au moment de la marée haute, les prélèvements suivants sont réalisés à marée descendante. Les caractéristiques physico-chimiques des prélèvements sont fournies en annexe 4.1 (Tableau A4.1.4 et figures A4.1.1 et A4.1.2).



Figure 4.1.4 : Position des points de prélèvements réalisés en février 1992 le long du gradient de salinité de la Charente (Campagne "GAEL2").

On identifie la présence de simazine, atrazine et DEA sur tous les points du profil estuarien. Les niveaux de concentration sont présentés dans le tableau 4.1.3. Les concentrations en amont (S = 0.3) sont de 42 ng.l⁻¹, 62 ng.l⁻¹, et 56 ng.l⁻¹ pour la simazine, l'atrazine et la DEA respectivement. Elles sont de 5 ng.l⁻¹, et 14 ng.l⁻¹ pour la simazine et l'atrazine respectivement, et de 19 ng.l⁻¹ pour la DEA, à un niveau de salinité de 30.

Point	Salinité	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR
Aix	33.2	5	13	ng	
8	30.2	11	14	19	1.4
7	23.7	15	23	20	0.9
6	20.6	19	31	27	0.9
5	14.4	23	38	30	0.8
Charras	8.2	23	63	40	0.6
4	4.8	35	57	80	1.4
3	1.6	34	59	46	0.8
2	1.3	42	63	102	1.6
1	0.7	33	56	49	0.9
Taillebourg	0.3	42	62	56	0.9

Tableau 4.1.3 : Niveaux de concentration (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine et DEA, et rapport DEA/atrazine (DAR) sur un profil réalisé en février 1992 sur l'estuaire de la Charente (Campagne "GAEL 2"). Quantification en GC/NPD sur colonne DB5. Résultats corrigés par rapport à un étalon interne de rendement (cyprazine).

Les concentrations en simazine sont inférieures à celles de l'atrazine. La différence des concentrations que l'on retrouve au niveau des eaux de l'estuaire est probablement due non pas à une différence de comportement des deux herbicides, mais aux différences des quantités utilisées. Les différents niveaux de présence des composés reflètent la moins grande quantité de simazine appliquée sur les cultures. Malgré la moins grande solubilité aqueuse de la simazine, les deux composés présentent en effet les mêmes potentialités d'être entraînés par ruissellement (Glotfelty *et al.*, 1984).

Les variations des concentrations en simazine et atrazine en fonction de la salinité sont représentées sur les figures 4.1.5 et 4.1.6 respectivement. La diminution des concentrations s'effectue de façon linéaire de l'amont vers l'aval de l'estuaire, indiquant une dilution de type conservatif. Les teneurs en atrazine (C en ng.l⁻¹) varient avec la salinité (S) selon la droite de régression d'équation :

C = 63 - 1.55 * S

avec n=11 et $r^2 = 0.94$ (significatif à 0.1%).

Pour la simazine, l'équation de régression est :

C = 38 - 0.95 * S

avec n = 11 et $r^2 = 0.91$ (significatif à 0.1%).



1

I

1

Figure 4.1.5 : Variations des concentrations en simazine en fonction de la salinité le long de l'estuaire de la Charente en février 1992 (Campagne "GAEL 2").

ATRAZINE



Figure 4.1.6 : Variations des concentrations en atrazine en fonction de la salinité le long de l'estuaire de la Charente en février 1992 (Campagne "GAEL 2").

Les équations de dilution conservative calculées le long de l'estuaire seraient les suivantes :

Catr = 62 - 1.46 x S Csim = 42 - 1.13 x S

pour l'atrazine et la simazine respectivement. Ces équations de dilution conservative théorique sont proches de celles obtenues par les droites de régression des composés en fonction de la salinité, supportant ainsi l'hypothèse d'un comportement conservatif.

Au point de salinité = 8, on observe par rapport à la droite de dilution conservative une plus grande concentration en atrazine et une plus faible concentration en simazine. Ce point a été prélevé au niveau de la sortie du canal de Charras, situé au sein des marais de Charente-Maritime. La vanne était en position ouverte. L'influence de l'eau du canal se traduit notamment par une salinité plus faible que sur le point plus en amont (point 5 S = 14). Sur ce prélèvement, le rapport simazine / atrazine est de 0.35, alors qu'il est globalement constant (0.6-0.7) sur le reste du profil. Ce résultat indique qu'une masse d'eau d'origine différente a été échantillonnée, et que cette eau n'est pas mélangée de façon homogène avec l'eau de l'estuaire. Cette masse d'eau se caractérise par des concentrations en herbicides qui diffèrent de celle de l'estuaire. Elle va ensuite se diluer rapidement avec l'eau de l'estuaire. De plus, le rapport DEA / atrazine est sensiblement plus faible en ce point (0.6) que sur l'ensemble du profil (0.8-1.6), confortant ainsi l'hypothèse d'une eau d'origine différente. Les niveaux de concentration en atrazine (63 ng.l-1) et simazine (23 ng.l-1) sur ce point sont de l'ordre de grandeur de ceux enregistrés sur le canal de Charras en février 1993 : 54 ng.l-1 et 32 ng.l-1 pour l'atrazine et la simazine respectivement (Chapitre 3).

La dilution conservative des herbicides suggère qu'aucun processus d'adsorption ou de désorption n'intervient au cours de leur transport dans l'estuaire, et qu'aucun phénomène de dégradation ne se produit à l'échelle de temps considérée. De plus, nos résultats ne mettent en évidence aucun apport latéral significatif le long de la Charente entre Taillebourg et la sortie du canal de Charras. Les apports du canal de Charras sont rapidement dilués dans l'estuaire.

Les concentrations en DEA ont été également déterminées de la référence fluviale (56 ng.l⁻¹) au point de salinité 30 (19 ng.l⁻¹). Les variations des concentrations selon la salinité s'effectuent de façon linéaire selon l'équation :

(avec $r^2 = 0.94$, significatif à 0.1%), en écartant les valeurs obtenues aux points de salinités 4.8 et 1.3. A ces salinités, on observe en effet une augmentation des teneurs en

DEA par rapport à la droite de dilution (figure 4.1.7). Nous n'expliquons pas ces plus fortes concentrations. Ces valeurs ont en effet été confirmées sur colonne plus polaire (DX4), et ne sont donc vraisemblablement pas dues à un problème de co-élution. Les analyses en spectrométrie de masse ne mettent pas en évidence de produit co-éluant avec la DEA.



Figure 4.1.7 : Variations des concentrations en DEA le long du gradient de salinité de la Charente en février 1992. Quantifications en CPG/NPD sur colonne DB5 (a) et DX4 (b).

L'équation de dilution conservative théorique est C = 57 - 1.24 x S

1.6. Variations saisonnières

Les niveaux de présence en herbicides observés en février au niveau de la référence fluviale (42 ng.l⁻¹ et 62 ng.l⁻¹ pour la simazine et l'atrazine respectivement) sont deux à trois fois inférieurs à ceux observés au mois de mai (124 ng.l⁻¹ et 135 ng.l⁻¹

respectivement). Cette différence est directement liée à la période d'épandage des herbicides, période pendant laquelle les concentrations que l'on retrouve dans les eaux sont plus élevées. Ce résultat indique que le transport des produits des zones agricoles vers le milieu aquatique s'effectue rapidement. Le niveau de contamination observé en février représente un niveau de base de la contamination.

La présence de ces herbicides dans les eaux estuariennes en dehors de leur période d'utilisation montre qu'ils sont assez persistants d'une année à l'autre, et qu'ils restent mobilisables. Leur apport dans le milieu s'effectue essentiellement à partir des sols par ruissellement et drainage sous forme d'une contamination diffuse.

Le tableau 4.1.4 présente les différentes valeurs du rapport DEA/atrazine (DAR) obtenues sur nos résultats en fonction des périodes de prélèvement. Les valeurs du rapport sont plus élevées en période hivernale qu'au mois de mai 1991 et juin 1992 : la valeur moyenne du DAR est de 1 sur le profil estuarien de la Charente au mois de février 1992, alors qu'elle est de 0.3 sur l'ensemble du bassin en mai 1991, et de 0.5 en juin 1993. Ce rapport est utilisé comme indice de la dégradation de l'atrazine. Les valeurs plus élevées de ce rapport indiquent un temps de résidence plus long de l'atrazine dans les sols, où la déalkylation par voie chimique ou biologique se produit.

PERIODE	Site	Salinité	DAR
	La Lay	28	0.3
	Sèvre	2.9	0.3
		8	0.3
	Aiguillon	15.7	0.2
MAI 1991	Brouage		0.4
		22.1	0.2
	Mérignac	29.4	0.4
	Seudre	31.8	0.3
	Maumusson	31.6	0.4
		33	0.5
		33.4	0.6
	Bassin	31.7	0.4
JUIN 1993	de	33.3	0.6
	Marennes-Oléron	32.7	0.6
		32.7	0.4

PERIODE	Site	Salinité	DAR
		33.2	0.9
		0.7	0.9
		1.3	1.6
		1.6	0.8
FEVRIER	Estuaire	4.8	1.4
1992	de la	8.2	0.6
	Charente	14.4	0.8
		20.6	0.9
		23.7	0.9
		30.2	1.4

Tableau 4.1.4 : Variations du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction des périodes d'échantillonnage.
2. L'estuaire de la Gironde

2.1. Présentation du site

L'estuaire de la Gironde est constitué de la réunion au niveau du Bec d'Ambès, des réseaux hydrographiques de la Garonne et de la Dordogne. Son bassin versant occupe 87000 km², le classant ainsi au troisième rang des bassins versants français. La surface agricole utilisée du bassin est de 42000 km², dont 16% sont occupés par les céréales, 10% par le maïs, 4% par le colza et 4% par la vigne.

L'estuaire occupe à lui seul 625 km² à marée haute et s'étend sur 76 km du Bec d'Ambès à l'embouchure, où sa largeur atteint 11 km (Jouanneau, 1982). C'est le plus grand estuaire des côtes françaises. Les limites amonts de la marée dynamique sont situées à plus de 150 km en amont de l'embouchure, à La Réole sur la Garonne et à Pessac sur la Dordogne.

Au cours de notre période d'étude, les débits annuels moyens de la Garonne et de la Dordogne étaient respectivement de 800 m³.s⁻¹ et 394 m³.s⁻¹ pour l'année 1992, et de 572 m³.s⁻¹ et 329 m³.s⁻¹ pour l'année 1993 (annexe 4.2). La Dronne et l'Isle contribuaient faiblement aux apports en eau à la Dordogne (moyennes annuelles de 18 m³.s⁻¹ et 33 m³.s⁻¹ respectivement pour 1992, et de 21 m³.s⁻¹ et 42 m³.s⁻¹ pour 1993). A titre de comparaison, les débits annuels moyens obtenus sur une période de 10 ans (1961 à 1970) étaient de 444 m³.s⁻¹ et de 322 m³.s⁻¹ pour la Garonne et la Dordogne respectivement, et de 463 m³.s⁻¹ et 355 m³.s⁻¹ pour la période de 1976 à 1979 (Allen, 1972 ; Jouanneau, 1982). Les débits moyens mensuels au cours de notre période d'étude étaient de 363 m³.s⁻¹ et 187 m³.s⁻¹ en février 1992 et de 509 m³.s⁻¹ et 340 m³.s⁻¹ en juin 1993 pour la Garonne et la Dordogne respectivement.

Le temps de renouvellement de l'eau douce dans l'estuaire est compris entre 12 et 83 jours (Martin *et al.*, 1986). Le volume d'eau douce dans l'estuaire a été estimé à $2.48 \times 10^9 \text{ m}^3$ en période de crue, et à $1.44 \times 10^9 \text{ m}^3$ en période d'étiage (Allen, 1972). Pour des valeurs moyennes des débits cumulés de la Garonne et de la Dordogne de 550 m³.s⁻¹ (étiage) en février 1992 et de 849 m³.s⁻¹ (intermédiaire) en juin 1993, le temps de renouvellement de l'eau douce dans l'estuaire (calculé par le rapport volume / flux) serait environ de 30 jours en février 1992 et de 24 jours (calculé sur le volume moyen = $1.74 \times 10^9 \text{ m}^3$) en juin 1993.

2.2. Campagnes de prélèvements

Deux campagnes de prélèvements ont été réalisées sur l'estuaire de la Gironde : la première en février 1992 (campagne "Gael 2" du 16 au 17 février 1992), et l'autre en juin 1993 (campagne "Tresterb" du 3 au 5 juin 1993).

Campagne "GAEL 2" : 16-17 février 1992

Au cours de cette première campagne, huit échantillons ont été prélevés le long de l'estuaire sur une période de 2 jours (16 février : points zéro à trois, et 17 février : points quatre à sept). Les prélèvements couvraient une gamme de salinités s'étendant de 0.2 à 30.4. La carte présentée sur la figure 4.2.1 indique la position des points de prélèvements. Le point noté zéro a été prélevé sur la Garonne au point kilométrique 20 (pK 20), à basse mer. Les points 4 (basse mer) à 6 (haute mer) ont été prélevés en un point fixe (pK 90) pendant le flot. Les débits enregistrés sur la Garonne et la Dordogne au moment des prélèvements étaient respectivement de 473 m³.s⁻¹ et 211 m³.s⁻¹ le 16 février. Le coefficient de marée était voisin de 85.



Figure 4.2.1 : Carte des sites de prélèvements effectués le long de l'estuaire de la Gironde les 16 et 17 février 1992 (campagne "GAEL2").

2.3. Résultats - février 1992

Les caractéristiques physico-chimiques des prélèvements sont présentées en annexe 4.2 (tableau A4.2.3 et figures A4.2.5 à A4.2.8). Les teneurs en MES sont élevées comparativement aux autres estuaires étudiés : elles sont comprises entre 864 mg.l⁻¹ à une salinité de 1 et 92 mg.l⁻¹ à une salinité de 30. Les teneurs en carbone organique des particules sont voisines de 1.5%. Le COD varie entre 130 µmol.l⁻¹ et 232 µmol.l⁻¹.

Les échantillons d'eau filtrée ont été extraits par ELL. Les herbicides identifiés en phase dissoute appartiennent à la famille des chloro-triazines (simazine, atrazine et DEA), et à la famille des amides (tebutam). Les niveaux de concentration en ng.l⁻¹ sont présentés dans le tableau 4.2.1. Ils sont compris entre 21 ng.l⁻¹ et 9 ng.l⁻¹ pour la simazine, entre 35 ng.l⁻¹ et 9 ng.l⁻¹ pour l'atrazine, et entre 23 ng.l⁻¹ et 8 ng.l⁻¹ pour la DEA. Les concentrations en tebutam varient de 789 ng.l⁻¹ en zone fluviale (Garonne) à 16 ng.l⁻¹ en zone marine de l'estuaire.

Point	Salinité	Tebutam (ng.l ⁻¹)	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR
7	30.4	16	9	9	8	0.89
6	28.8	22	10	11	10	0.95
5	21.4	83	17	18	15	0.86
4	19.5	73	18	19	20	1.05
3	7.0	199	20	26	23	0.88
2	4.8	290	19	27	19	0.7
1	1.1	601	21	33	23	0.7
0	0.2	789	18	35	14	0.4

Tableau 4.2.1 : Niveaux de concentration en tebutam, simazine, atrazine et DEA, et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde en février 1992.

La variation des concentrations en atrazine en fonction de la salinité est représentée sur la figure 4.2.2.

Chapitre 4



Figure 4.2.2 : Estuaire de la Gironde, février 1992 (Campagne "GAEL 2"). Variations des concentrations (ng.l⁻¹) en atrazine en fonction de la salinité.

Les concentrations varient de l'amont à l'aval de l'estuaire de façon linéaire, selon une droite d'équation :

C = 33 - 0.78 * S

avec un coefficient r^2 de 0.98 significatif à 0.1% (figure 4.2.3).



Figure 4.2.3 : Estuaire de la Gironde, février 1992 (Campagne "GAEL 2"). Droite de régression (r significatif à 0.1%) obtenue sur la variation des concentrations (ng.l⁻¹) en atrazine en fonction de la salinité.

L'équation de dilution conservative calculée sur les points à salinités 0.2 et 30.4 est peu différente :

$C = 35 - 0.86 \times S$

Le même type de profil est observé pour la simazine. La variation des concentrations en simazine en fonction de la salinité est représentée sur la figure A4.2.9 de l'annexe 4.2. L'équation de régression linéaire calculée sur les huit points du profil présente un coefficient de détermination r^2 significatif à 1%, indiquant que la dilution s'effectue de façon conservative dans l'estuaire.

Variations des concentrations en tebutam

Les niveaux de concentration en tebutam le long de l'estuaire varient de 789 ng.l⁻¹ au pK 20 (S = 0.2) à 16 ng.l⁻¹ au pK 110 (S = 30). La variation des concentrations en fonction de la salinité est représentée sur la figure 4.2.4. La diminution des concentrations de l'amont à l'aval de l'estuaire ne suit pas une droite. On observe en effet le long du gradient de salinité un écart par rapport à la droite de dilution théorique (trait continu sur la figure 4.2.4) d'équation :

C = 794 - 25.6 x S

Cet écart correspondrait en théorie à un enlèvement de la phase dissoute. Cet enlèvement du compartiment dissous pourrait être dû à un phénomène d'adsorption sur les particules, ou à une dégradation se produisant dans la masse d'eau au cours de son transit dans l'estuaire. L'analyse en CPG/NPD des MES du prélèvement réalisé au pk 30 (S = 1), où la teneur en MES est la plus élevée du profil (864 mg.l⁻¹), n'a pas permis d'identifier ce composé en phase particulaire. De plus, en raison de sa solubilité aqueuse élevée, il est fort peu probable que cet herbicide ait tendance à s'adsorber en quantités importantes aux particules.

La présence de tebutam dans les eaux de la Garonne est dûe à son utilisation sur les cultures de colza d'hiver. Les prélèvements ont été réalisés consécutivement à une augmentation des débits, donc à une pluviométrie importante. La forte concentration en tebutam observée dans les eaux en amont de l'estuaire pourrait donc être la conséquence d'un lessivage important des terres agricoles en période d'épandage, entrainant ce composé en phase dissoute. Le tebutam est très soluble dans l'eau (1000 mg.l⁻¹ à 25°C, ACTA 1994) : il est donc susceptible d'être facilement entrainé par phénomène de lessivage. L'écart à la droite de dilution observé sur la figure 4.2.4 peut donc s'expliquer par un apport important de tebutam en phase dissoute, suivi d'une dilution rapide dans l'estuaire.

L'apport de cet herbicide en concentration importante dans l'estuaire est vraisemblablement dû à une source ponctuelle locale. L'étude réalisée dans notre laboratoire par Mégnégneau *et al.* (1994) a confirmé la présence de cet herbicide au niveau des eaux du Lot et de la Garonne, et a mis en évidence son absence dans les eaux de la Dordogne. Cette différence est directement liée à la répartition des cultures de colza, localisées essentiellement sur le bassin versant de la Garonne.



Figures 4.2.4 : Estuaire de la Gironde, février 1992 (Campagne "GAEL 2"). Variations des concentrations (ng.l⁻¹) en tebutam en fonction de la salinité. Le trait plein représente la droite de dilution conservative. Le trait pointillé correspond à la droite de régression (n=4) obtenue sur les points salins.

Le flux brut journalier en tebutam entrant dans l'estuaire de la Gironde, calculé au niveau de la Garonne (C_0 x débit Garonne, où C_0 est la concentration en eau douce) est de 32.2 kg.j⁻¹. En extrapolant à S = 0 la droite de régression (n = 4) calculée sur les points salins (trait pointillé sur la figure 4.2.4), la concentration au niveau de salinité zéro serait de 202 ng.l⁻¹. Le flux journalier entrant à l'océan (flux net) serait alors de 8.2 kg.j⁻¹. La différence (24 kg.j⁻¹) entre les deux flux correspond aux apports nets à l'estuaire (Andreae *et al.*, 1983).

2.4. Résultats - juin 1993

Campagne "TRESTERB" : 3-7 juin 1993.

La seconde campagne (figure 4.2.5) fut réalisée en juin 1993. Les coefficients de marée étaient voisins de 90. Les prélèvements effectués du 3 au 7 juin 1993 couvrent une gamme de salinité de 0.1 à 34.5. Pour évaluer la contribution de chaque fleuve à l'estuaire, deux points furent prélevés au cours du jusant sur la Dordogne (point 11 le 4 juin) et sur la Garonne (point 8 le 4 juin). Le point 6 a été prélevé le 4 juin au niveau de la confluence du Bec d'Ambès. Les points 12 à 17 (PF pour point fixe sur la carte - pk 75) furent prélevés le 5 juin pendant le flot (point 17 à haute mer) à raison d'un échantillon

par heure. Les débits moyens au cours des prélèvements étaient de 557 m³.s⁻¹ pour la Garonne et de 232 m³.s⁻¹ pour la Dordogne. (Les débits de la Dordogne correspondent au cumul des débits de la Dronne, de l'Isle, et de la Dordogne à Bergerac). Les échantillons ont été extraits par ELL et ELS sur résine XAD-2.



Figure 4.2.5 : Carte des sites de prélèvements effectués le long de l'estuaire de la Gironde en juin 1993 (campagne "TRESTERB").

Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques des prélèvements sont données en annexe 4.2 (Tableau A4.2.4 et figures A4.2.10 à A4.2.13). Les MES varient de 1463 mg.l⁻¹ sur la Dordogne (à S = 0.3) à 4.4 mg.l⁻¹ au large de l'estuaire (à S = 34.5). Les valeurs du COD non corrigées du blanc (51 μ mol.l⁻¹) sont comprises entre

239 μ mol.l⁻¹ et 114 μ mol.l⁻¹. Elles sont corrélées de façon significative (0.1%) à la salinité (r² = 0.66, n = 19), selon la relation :

 $C = 202 - 2.2 \times S$ (figure 4.2.6)



Figure 4.2.6 : Variation des concentations en COD (µmol.l⁻¹) en fonction de la salinité dans l'estuaire de la Gironde, juin 1993.

Composés identifiés en phase dissoute : niveaux de concentration

Les herbicides identifiés appartiennent à la famille des triazines (simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine) et à celle des acétanilides (metolachlor, alachlor).

Les résultats corrigés par rapport à un étalon de rendement (prétilachlor) sont présentés dans le tableau 4.2.2 pour les extractions liquide-liquide et dans le tableau 4.2.3 pour les échantillons extraits sur résines XAD-2. L'analyse statistique des résultats obtenus par les deux méthodes d'extraction (voir § 4.5 du chapitre 2) ne mettait en évidence aucune différence significative pour la simazine, l'atrazine, la terbuthylazine et le métolachlor, nous autorisant ainsi à considérer les deux séries de résultats. Par contre, les résultats obtenus par les deux méthodes pour la DEA étaient significativement différents. Les échantillons extraits par ELL étant en nombre plus important que ceux extraits par ELS, nous les utiliserons tout de même dans l'examen des profils estuariens.

La simazine, l'atrazine et la DEA sont identifiées sur tout le profil. Les concentrations minimales sont enregistrées sur l'échantillon prélevé très au large de l'estuaire (S = 34.5, point 21) : elles sont de 13 ng.l⁻¹ pour la simazine et l'atrazine, et de 10 ng.l⁻¹ pour la DEA. La terbuthylazine est identifiée jusqu'à une salinité de 32, où sa concentration est de 18 ng.l⁻¹. Le métolachlor est détecté jusqu'à S = 25.5, à une

concentration de 49 ng.l⁻¹. L'alachlor n'a pu être identifié que sur l'échantillon non dopé prélevé sur la Garonne (point 8) à une concentration de 99 ng.l⁻¹. Il n'a pu être quantifié sur l'ensemble du profil en raison de co-élutions dues à l'ajout d'étalons internes, ceci sur les deux types de colonnes utilisées (DB5 et DX4).

Les plus fortes concentrations en herbicides sont enregistrées pour l'atrazine au point 5 sur la Dordogne, avec 591 ng.l⁻¹. Les maxima de concentration en simazine et DEA sont de 299 ng.l⁻¹ et 75 ng.l⁻¹ respectivement. Elles sont enregistrées sur ce même prélèvement.

Point	Salinité	Simazine ng.1 ⁻¹	Atrazine ng.l ⁻¹	DEA ng.l ⁻¹	DAR ng.l ⁻¹	Terbuthylazine ng.l ⁻¹	Metolachlor ng.l ⁻¹
8	0.1	161	349	70	0.2		90
11	0.3	222	416	65	0.16	83	129
5	0.4	299	591	75	0.13		123
6	1.0	263	446	71	0.16	103	145
7	2.9	287	511	48	0.09	105	121
9	4.0	276	501	54	0.11	104	115
12	8.0	249	430	60	0.14		91
13	11.7	208	295	46	0.16	71	88
14	15.4	168	236	44	0.19	61	66
15	15.7	174	249	39	0.16	66	72
4	16.6	156	217	33	0.15	58	64
16	17.4	157	218	34	0.16	54	58
17	19.2	142	190	39	0.21	52	61
3	24.4	113	136	31	0.23	48	
18	25.5	98	122	27	0.22	43	50
2	29.5	63	70	15	0.22	28	
19	32.0	39	46	12	0.26	18	
1	34.0	16	16	9	0.58		
21	34.5	13	13	10	0.78	-	

Extractions liquide-liquide

Tableau 4.2.2 : Niveaux de concentration en simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine, métolachlor, et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde, juin 1993, obtenus par Extraction Liquide-Liquide.

Les références des points correspondent à la figure 4.2.5.

PointSalinitéSimazine ng.l^{-1}Atrazine ng.l^{-1}DEA ng.l^{-1}DARTerbuthylazine ng.l^{-1}Metolachlo ng.l^{-1}ref10.12264271050.259716580.1159351970.283192110.32263851270.339113561244448780.17100149952694111070.2698125127.4289446790.18951041313.2186292520.1874821617.7163226670.362621719.7122178480.275456								
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	Point	Salinité S	Simazine ng.l ⁻¹	Atrazine ng.l ⁻¹	DEA ng.l ⁻¹	DAR	Terbuthylazine ng.l ⁻¹	Metolachlor ng.l ⁻¹
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	ref1	0.1	226	427	105	0.25	97	165
$\begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	8	0.1	159	351	97	0.28	31	92
	11	0.3	226	385	127	0.33	91	135
9 5 269 411 107 0.26 98 125 12 7.4 289 446 79 0.18 95 104 13 13.2 186 292 52 0.18 74 82 16 17.7 163 226 67 0.3 62 62 17 19.7 122 178 48 0.27 54 56	6	1	244	448	78	0.17	100	149
127.4289446790.18951041313.2186292520.1874821617.7163226670.362621719.7122178480.275456	9	5	269	411	107	0.26	98	125
1313.2186292520.1874821617.7163226670.362621719.7122178480.275456	12	7.4	289	446	79	0.18	95	104
16 17.7 163 226 67 0.3 62 62 17 19.7 122 178 48 0.27 54 56	13	13.2	186	292	52	0.18	74	82
17 19.7 122 178 48 0.27 54 56	16	17.7	163	226	67	0.3	62	62
	17	19.7	122	178	48	0.27	54	56
3 24.4 111 135 50 0.37 47 47	3	24.4	111	135	50	0.37	47	47
18 25.6 83 111 41 0.37 42 49	18	25.6	83	111	41	0.37	42	49
1 34 16 19 10 0.53 10	1	34	16	19	10	0.53	10	
21 34.5 10 12 9 0.77 6	21	34.5	10	12	9	0.77	6	

Extractions liquide-solide sur résines XAD-2

Tableau 4.2.3 : Niveaux de concentration en simazine, atrazine, DEA, terbuthylazine, métolachlor, et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité de l'estuaire de la Gironde, juin 1993, obtenus par Extraction Liquide-Solide sur résines XAD-2.

Les références des points correspondent à la figure 4.2.5.

Variation des concentrations en herbicides dissous au cours du mélange estuarien La variation des concentrations en atrazine en fonction de la salinité est représentée sur la figure 4.2.7.



Figure 4.2.7 : Estuaire de la Gironde, juin 1993 (Campagne "TRESTERB"). Variation des concentrations en atrazine (ng.l⁻¹) en fonction de la salinité.

Les profils obtenus pour les autres composés présentent le même type de variation. Ils sont présentés en annexe 4.2 (figures A4.2.14 à A4.2.23). Pour chacun des composés, il existe une relation linéaire entre la concentration en herbicide en phase dissoute et la salinité. Les droites de régression représentées sur les figures en traits pointillés présentent toutes des coefficients r² significatifs à 0.1%. A titre d'exemple, la droite de régression obtenue sur les concentrations en atrazine est présentée sur la figure 4.2.8. Les droites obtenues pour les autres composés sont présentées en annexe 4.2.



Figure 4.2.8 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variation des concentrations en atrazine en fonction de la salinité. En trait pointillé : droite de régression linéaire de coefficient r^2 significatif à 0.1%.

Les droites de dilution conservative calculées à partir des concentrations mesurées en aval du bec d'Ambès (point 6) jusqu'au point de salinité 34.5 (point 21) sont représentées en traits pleins sur les profils (figure 4.2.9 pour l'atrazine).



Figure 4.2.9 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variation des concentrations en atrazine en fonction de la salinité. En trait continu : droite de dilution conservative théorique. Les numéros correspondent aux points de prélèvements indiqués sur la carte en figure 4.2.5.

Sur la Dordogne, le point 5 qui a été échantillonné pendant le flot, juste avant l'heure de pleine mer, présente des concentrations en herbicides plus élevées que celles enregistrées sur l'échantillon prélevé au cours du jusant (point 11), 3 heures après la pleine mer. Il semble donc que, contrairement à ce que l'on attendrait, l'influence des eaux estuariennes se manifeste par des concentrations plus élevées en herbicides. Le même phénomène s'observe sur les échantillons prélevés sur la Garonne, où les concentrations en herbicides sont plus élevées sur l'échantillon prélevé pendant le flot une heure avant la pleine mer (ref1, tableau 4.2.3) que pendant le jusant (point 8). Des niveaux de concentrations fluviales plus élevés au cours de la période précédant l'échantillonnage pourraient expliquer cette situation : selon cette hypothèse, les eaux estuariennes plus en aval porteraient effectivement l'empreinte de ces concentrations plus élevées. L'examen des conditions hydrologiques au cours de la période de prélèvements vient appuyer cette hypothèse : les prélèvements ont en effet été effectués en période de décroissance du débit de la Garonne (figure 4.2.10), et donc de baisse de la pluviométrie sur le bassin versant. Cette baisse de la pluviométrie pourrait être à l'origine d'une diminution des concentrations en herbicides dans les eaux fluviales au moment des prélèvements.

Le suivi des variations temporelles des concentrations en amont, au niveau des références fluviales de chacun des fleuves à Pessac et La Réole (limites de la marée dynamique) avant notre période d'échantillonnage dans l'estuaire aurait permis de vérifier la véracité de notre hypothèse.



Figure 4.2.10 : Variations journalières des débits enregistrés sur la Garonne à La Réole (trait pointillé) et la Dordogne (débits cumulés Dronne + Isle + Dordogne) (trait plein) en mai et juin 1993.

Loder et Reichard (1981) ont décrit les profils que l'on observerait au cours du mélange conservatif d'un composé dissous dont la concentration diminuerait au cours du temps au niveau de la référence fluviale. Le type de profil que l'on obtient est présenté sur la figure 4.2.11 pour un composé dont les concentrations diminuent au niveau de la référence fluviale selon une périodicité journalière et de 50 jours, avec un temps de renouvellement des eaux inférieur à la période de variation des concentrations à long terme.



Figure 4.2.11 : Courbe de dilution observée lors du mélange conservatif d'un composé dissous dans un estuaire, avec la concentration au niveau de la référence fluviale qui diminue selon une périodicité journalière, et de 50 jours.(D'après Loder et Reichard, 1981).

Le profil simulé présenté sur la figure 4.2.11 est proche de ceux que l'on obtient sur nos résultats. L'amplitude (en ordonnée) et l'étendue (en abscisse) de la courbure observée au niveau des faibles salinités dépend de l'intensité du mélange et de la période de variation des concentrations en amont. L'amortissement de la courbure se produit d'autant plus tôt (i.e. vers les faibles salinités) que le mélange est important, et que la période de variation des concentrations est plus faible (Loder et Reichard, 1981). Les niveaux de concentrations des herbicides peuvent présenter des variations temporelles qui diffèrent en amplitude et intensité selon les composés, expliquant ainsi les dissemblances pouvant être observées sur les profils.

En comparant les concentrations en herbicides enregistrées au niveau de chaque fleuve au cours du jusant, on remarque que les concentrations en simazine, atrazine, DEA et métolachlor sont plus élevées sur la Dordogne (point 11) que sur la Garonne (point 8). Cependant, les études précédemment menées sur la contamination des eaux fluviales par les herbicides ont établi que les niveaux de présence étaient plus élevés sur la Garonne que sur la Dordogne (Mégnégneau *et al.*, 1994 ; Lartiges, 1994). D'autre part, l'étude menée par Ansel *et al.* (1994) a montré que la répartition géographique des zones agricoles définissait une zone de plus forte "pression polluante" le long de la Garonne, selon une diagonale NO-SE. Dans notre cas, les plus forts niveaux de présence relevés sur la Dordogne s'expliquent en examinant les conditions de prélèvement par rapport aux heures de marée. Le point 11 (Dordogne) a été prélevé 3 heures après la pleine mer, alors que le point 8 (Garonne) a été prélevé 5 heures après la pleine mer. Par conséquent, les eaux échantillonnées sur la Dordogne portent plus l'empreinte des eaux estuariennes de concentrations plus élevées en herbicides que celles prélevées sur la Garonne.

Ces observations soulignent la difficulté d'interprétation des résultats en milieu estuarien, et la nécessité d'examiner ces résultats de façon précise en fonction des conditions de prélèvement.

Estimation des flux bruts journaliers

Au moment des prélèvements, la Dordogne et la Garonne contribuent respectivement en moyenne à 29% et 71% des apports en eau douce à l'estuaire. Ces proportions sont globalement conservées sur l'ensemble de l'année (40% et 60%). Ainsi, en prenant en compte les débits journaliers et les concentrations enregistrées pendant le jusant au niveau de chaque fleuve (points 8 et 11), on calcule les flux bruts entrant dans l'estuaire par chacun des fleuves. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.2.4. Ces calculs ne constituent qu'une approximation des flux bruts, car les concentrations utilisées dans les calculs auraient dû être celles des références fluviales de Pessac et La Réole. Nous ne disposions toutefois pas de ces données.

Comportement géochimique en milieu estuarien

	GARONNE	DORDOGNE		
Débit en eau	557 m ³ .s ⁻¹ (71%)	232 m ³ .s ⁻¹ (29%)		
	FLUX BRUT (kg.j ⁻¹)			
Simazine	8.7	5.4		
	(62%)	(38%)		
Atrazine	18.9	10.2		
	(65%)	(35%)		
DEA	3.8	1.6		
	(70%)	(30%)		
Métolachlor	4.9	3.2		
	(60%)	(40%)		

Tableau 4.2.4 : Flux bruts journaliers (kg.j⁻¹) en herbicides entrant dans l'estuaire de la Gironde, et contributions relatives de la Garonne et de la Dordogne. (Juin 1993).

La Garonne contribue donc à la majeure partie des apports (entre 60% et 70%) en herbicides à l'estuaire de la Gironde, en raison de son débit plus important.

Les débits moyens de la Garonne et de la Dordogne et les flux journaliers en herbicides calculés ci-dessus permettent d'évaluer les concentrations théoriques en chacun des herbicides en aval de la confluence du bec d'Ambès :

C = Flux / Débit

On supposera que le débit en aval du bec d'Ambès est égal à la somme des débits de la Dordogne, de l'Isle, de la Dronne et de la Garonne (hypothèse de conservation en eau). Les concentrations théoriques ainsi calculées sont de 207 ng.l-1 pour la simazine, 427 ng.l⁻¹ pour l'atrazine, 79 ng.l⁻¹ pour la DEA et 119 ng.l⁻¹ pour le métolachlor. Les concentrations mesurées au point 6 étaient en moyenne (sur les deux méthodes d'extraction) respectivement de 254 ng.l⁻¹, 447 ng.l⁻¹, 75 ng.l⁻¹ et 147 ng.l⁻¹ pour chacun de ces composés. Si le transport des composés s'effectue effectivement de manière conservative (pas de source ni d'enlèvement au cours du transit), les flux mesurés en aval de la confluence (point 6) doivent être égaux à la somme des flux mesurés sur la Dordogne (point 11) et la Garonne (point 8). Dans le cas présent, l'écart existant entre les concentrations théoriques et les concentrations mesurées est en fait variable selon les composés : il est plus important pour la simazine (18%) et le métolachlor (19%) que pour l'atrazine (4%) et la DEA (5%). Pour ces deux derniers composés, le bilan semble donc être équilibré. A l'opposé, pour la simazine et le métolachlor, les concentrations mesurées, plus importantes que les concentrations théoriques, suggèrent l'existence de sources locales, au niveau de l'estuaire. Un rapport a été établi récemment par le CEMAGREF et l'Agence de l'eau Adour-Garonne (Ansel et al., 1994) sur les risques de pollution par les pesticides au niveau du bassin Adour-Garonne. Cette étude répertorie

les pesticides utilisés sur les cultures au niveau très local de petites régions agricoles (PRA). Ainsi, l'utilisation de la simazine sur la vigne et du métolachlor sur le maïs est signalée au niveau des PRA entourant l'estuaire. A l'opposé, ce rapport indique que l'atrazine n'est pas utilisée sur ces PRA. L'hypothèse de sources locales d'herbicides est donc tout à fait justifialble pour la simazine et le métolachlor.

3. Le delta du Rhône

3.1. Présentation du site

Le bassin versant du Rhône occupe une superficie de 99000 km². Le fleuve, long de 812 km, prend sa source en Suisse et se jette en Méditerranée par un delta de 750 km² formé par le petit Rhône et le grand Rhône (Kempe *et al.*, 1991). Son débit est très variable: de 540 m³.s⁻¹ en période d'étiage, il peut atteindre 12500 m³.s⁻¹ en période de crue exceptionnelle. Les valeurs moyennes annuelles de débit sont voisines de 1700 m³.s⁻¹ et 1134 m³.s⁻¹ (tableau A4.3.1 en annexe 4.3). En raison de l'absence de phénomène de marée, le temps de séjour des eaux dans le delta est déterminé essentiellement par le débit du fleuve. Plus le débit est élevé, plus le temps de transit d'une parcelle d'eau de Arles jusqu'à l'embouchure du delta est faible. Le temps de résidence de l'eau est donc faible (quelques jours) comparativement aux estuaires macrotidaux (Gironde, Seine).

Le Rhône draîne 15% des surfaces cultivées du territoire français. Les principales cultures sont la vigne, le maïs et l'horticulture, alors que la partie la plus en aval du fleuve (région de Camargue) est principalement occupée par la riziculture. Parmi les quatre bassins versants des grands fleuves français, le bassin versant du Rhône est au premier rang de l'utilisation de fongicides, et au quatrième rang de celle d'herbicides et d'insecticides.

Les études préliminaires que nous avons effectuées sur le delta du Rhône (novembre 1990) ont permis d'établir la présence de chloro-triazines (simazine, atrazine) et de DEA, et de préciser leurs niveaux de concentration jusqu'à une salinité de 10 (Munschy, 1991 ; Tronczynski *et al.*, 1993 a). Un suivi mensuel réalisé de mai 1991 à juillet 1992 a par ailleurs permis de quantifier le flux brut annuel d'atrazine en phase dissoute apportée par le Rhône dans les eaux du delta. Ce flux calculé selon deux méthodes, pondérée et directe, est de 4400 kg.an⁻¹ et 3270 kg.an⁻¹ respectivement (Tronczynski *et al.*, 1993 b).

3.2. Campagne de prélèvements

Une campagne de prélèvements fut réalisée du 22 au 26 juillet 1992. Les eaux de salinités comprises entre 38 au large et 0.2 à Port St Louis (carte figure 4.3.1) ont été prélevées sur une période de trois jours (du 23 au 25 juillet). Afin de vérifier les variations des concentrations en amont du profil, des prélèvements journaliers ont été parallèlement réalisés en Arles du 22 au 26 juillet. Les caractéristiques physico-chimiques (S, T, pH, COD, MES, COP) des prélèvements sont présentées en annexe 4.3 (tableau A4.3.2 et figures A4.3.1 et A4.3.2). Les valeurs du COD sont comprises entre 131 µmol.l⁻¹ et 267 µmol.l⁻¹. Les MES varient de 19.6 mg.l⁻¹ à Arles en débit élevé à 2.3 mg.l⁻¹ au niveau de salinité 38, leurs richesses en carbone organique sont comprises entre 2.2% et 6.3%.



Figure 4.3.1 : Position des sites de prélèvements réalisés en juillet 1992 sur le delta du Rhône.

Au cours de la campagne de prélèvement, les débits journaliers du Rhône décroissent de 1480 m³.s⁻¹ le 22 juillet à 1134 m³.s⁻¹ le 26 juillet (figure.4.3.2). Cette diminution s'accompagne d'une diminution des MES et d'une augmentation de leur richesse en carbone organique.



Figure 4.3.2 : Variations journalières du débit du Rhône en juillet 1992. Les flèches indiquent la période de prélèvement.

3.3. Résultats

Dans tous les échantillons, on identifie la présence de simazine, atrazine et DEA en phase dissoute, de Arles à la zone de salinité 38. Les concentrations varient de la référence fluviale à la zone marine entre 49 ng.l⁻¹ et 5 ng.l⁻¹, entre 168 ng.l⁻¹ et 4 ng.l⁻¹, et entre 58 ng.l⁻¹ et 5 ng.l⁻¹ pour la simazine, l'atrazine et la DEA respectivement. Les résultats corrigés par rapport à un étalon interne de rendement (cyprazine) sont présentées dans les tableaux 4.3.1 (suivi journalier en Arles) et 4.3.2 (profil).

Date	Salinité	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR
22/07	0.12	49	168	58	0.34
23/07	0.5	38	163	48	0.29
24/07	0.15	44	128	50	0.39
26/07	0.17	44	114	55	0.48

Tableau 4.3.1 : Variations journalières des concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine, DEA et du rapport DEA/atrazine (DAR) en Arles en juillet 1992. Concentrations corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

Comportement géochimique en milieu estuarien

Salinité	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR		
38	5	4	5	1.25		
28.1	10	33	9	0.27		
24	17	50	17	0.34		
14.4	40	93	38	0.41		
8.5	40	170	36	0.21		
8.4	40	166	49	0.29		
8	43	165	51	0.31		
1.5	34	144	56	0.39		
1.4	29	131	32	0.24		
1.2	43	205	53	0.26		
0.2	36	143	48	0.33		

Tableau 4.3.2 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA en ng.l⁻¹, et rapport DEA/atrazine (DAR) le long du gradient de salinité du delta du Rhône, juillet 1992. Concentrations corrigées par rapport à un étalon interne de rendement.

Les figures 4.3.3 à 4.3.5 présentent les variations des concentrations en simazine, atrazine et DEA en fonction de la salinité.





Figure 4.3.3 : Variations des concentrations en simazine (ng.l⁻¹) en fonction de la salinité sur un profil réalisé en juillet 1992 sur le delta du Rhône. A22 et A26 désignent les résultats obtenus en Arles les 22 et 26 juillet respectivement.

250 A22 200 150 ng.l-1 100 A26 50 0 5 10 15 20 30 40 0 25 35 Salinité

ATRAZINE

Figure 4.3.4 : Variations des concentrations en atrazine (ng.l⁻¹) en fonction de la salinité sur un profil réalisé en juillet 1992 sur le delta du Rhône. A22 et A26 désignent les résultats obtenus en Arles les 22 et 26 juillet respectivement.

DEA





Les concentrations varient de l'amont vers l'aval de façon linéaire : les équations de régression calculées sur la totalité des points (n = 15) présentent des coefficients r^2 significatifs à 0.1% pour tous les composés. Ces variations des concentrations en fonction de la salinité suggèrent un comportement conservatif des composés lors du mélange des eaux du Rhône dans le delta. Les droites obtenues sont présentées en trait pointillé sur la figure 4.4.6 pour l'atrazine, et en annexe 4.3 (figures A4.3.3 et A4.3.4) pour la simazine et la DEA.



Figure 4.3.6 : Droite de régression des concentrations en atrazine en fonction de la salinité. Le coefficient r^2 est significatif à 0.1% (F=37).

Sur le profil de dilution de l'atrazine en fonction de la salinité présenté sur la figure 4.4.6, quatre points se situent au dessus de la droite de régression. Ces points correspondent à des prélèvements réalisés le même jour (23 juillet).



Figure 4.3.7 : Variations journalières des concentrations (ng. l^{-1}) en simazine, atrazine, et DEA en Arles en juillet 1992, et des débits (m^3 .sec. l^{-1}) du fleuve (trait continu).

Entre le 22 et le 26 juillet, on enregistre une décroissance du débit du fleuve. Cette décroissance s'accompagne d'une diminution des concentrations en atrazine enregistrées à Arles, qui passent de 168 ng.l⁻¹ à 114 ng.l⁻¹. La figure 4.3.7 représente les variations journalières des concentrations en herbicides, conjointement à celles du débit du fleuve. La diminution observée dans le cas de l'atrazine ne s'observe pas pour les autres composés.

Sur l'ensemble du profil, le rapport DAR est compris entre 0.24 et 1.25 (tableau 4.3.2). La valeur la plus forte est obtenue sur le prélèvement réalisé à S = 38. Si l'on écarte cet échantillon, le rapport est en moyenne de 0.3. Cette valeur moyenne est cohérente avec les données que nous avons obtenues sur les autres estuaires relativement à la période d'échantillonnage, proche de la période d'épandage des produits phytosanitaires. L'élévation de ce rapport dans les eaux de fortes salinités sera discutée au chapitre 5.

4. Séparation de la phase colloïdale par Ultra-Filtration Tangentielle (UFT)

4.1. Motifs de l'étude

Les résultats que nous présentons ici constituent une étude préliminaire relative à l'utilisation d'une membrane minérale d'UFT en milieu estuarien, en vue de son application à l'étude du partage des herbicides en phase colloïdale. L'utilisation d'une membrane d'UFT de petite dimension en zircone et oxyde d'aluminium a été expérimentée précédemment pour l'étude du carbone organique colloïdal en milieu marin (Sempéré, 1991). Nous avons quant à nous voulu évaluer dans un premier temps si les deux types de membrane que nous avions choisies pouvaient être utilisées sur des échantillons estuariens et marins de grands volumes, afin de pouvoir être appliquées à l'étude du partage des herbicides en phase colloïdale.

Importance géochimique des colloïdes

La sorption des composés organiques hydrophobes par les colloïdes est un processus influant sur le comportement biogéochimique des composés, principalement sur leur transport, leur devenir et leur bio-disponibilité (Hasset et Anderson, 1979 ; Means et Wijayaratne, 1982 ; Sigleo *et al.*, 1982). L'association des composés en phase colloïdale peut notamment permettre leur transport à de plus longues distances vers l'océan. Selon Glotfelty *et al.*, (1984), la dégradation des composés peut également être favorisée en phase colloïdale : les réactions d'hydrolyse de l'atrazine sont augmentées en

présence de matière organique, elles le seraient donc à fortiori en association avec des colloïdes organiques.

Le phénomène de mobilisation des composés en phase colloïdale peut être variable dans le temps et l'espace, car il dépend de la composition (organique, inorganique) de la matière colloïdale. Les colloïdes présents en milieu aquatique estuarien diffèrent en effet par leur composition et leur origine, selon les sites et les saisons. Sigleo et Helz (1981), Sigleo *et al.* (1982) ont montré qu'en période estivale, les colloïdes étaient majoritairement d'origine biogénique et comportaient peu d'éléments minéraux, alors qu'en hiver, leur composition était plutôt inorganique, d'origine terrigène

Quelques études menées sur le partage de l'atrazine en phase colloïdale ont montré que le coefficient Koc de l'atrazine était 10 à 35 fois plus élevé pour les colloïdes que pour la fraction organique des sédiments ou des sols (Means *et al.*, 1983). Les liaisons intervenant entre la molécule d'atrazine et les colloïdes sont faibles ; la sorption est par conséquent réversible.

Il apparaîssait donc important de tenir compte des interactions entre les contaminants organiques et les colloïdes dans les études menées en milieu estuarien. Notre site d'étude fut choisi sur l'estuaire de la Seine.

4.2. L'estuaire de la Seine

La Seine, longue de 780 km, possède un bassin versant de 78650 km², (Avoine, 1981). Elle reçoit les apports liés aux activités industrielles (40 % des activités françaises), urbaines (30 % de la population nationale) et agricoles. L'activité agricole occupe près de 60000 km², soit près de 80% du bassin versant (Cossa *et al.*, 1994). La zone estuarienne débute au barrage de Poses, qui constitue la limite amont de la marée dynamique située à 163 km du Havre. Le débit annuel enregistré à Poses était en moyenne de 490 m³.s⁻¹ entre 1982 et 1989 (Cossa *et al.*, 1994). Au cours de notre période d'étude, le débit journalier à Poses était compris entre 531 m³.s⁻¹ et 613 m³.s⁻¹. Le temps de renouvellement de l'eau douce dans l'estuaire est compris entre 3 et 20 jours en vive eau, et entre 2 et 9 jours en morte eau (Avoine, 1981).

4.3. Campagne de prélèvements

Notre étude concernant la séparation de la phase colloïdale par ultra-filtration tangentielle (UFT) a été réalisée sur quatre échantillons prélevés au cours de la mission "Seine-Aval" réalisée du 7 au 13 Octobre 1993 sur l'estuaire de la Seine. Ces quatre échantillons ont été prélevés à Poses (référence fluviale), et à des niveaux de salinité voisins de 4.5 (amont Honfleur), 15 (aval Honfleur) et 35 (estuaire externe).

La figure 4.4.1 indique la position de ces points de prélèvement. Les caractéristiques physico-chimiques des prélèvements sont données dans le tableau 4.4.1.

Date	Point	Salinité	T (°C)	рН	O ₂ mg.l ⁻¹	COD µmol.l ⁻¹	MES mg.l ⁻¹	COP mg.l ⁻¹	COP %
7-10-93	Poses	0.2	15	7.5	6	419	39.4	3.75	9.5
8-10-93	seav 5	3.7-4.7	15	7.5	2.4	253	45.8	2.4	5.2
12-10-93	seav 21	15	16	7.4	6.1	202	57.8	2.3	3.9
11-10-93	seav 16	34.5	16	8.1	9.5	70	1.2	0.1	7.2

Tableau 4.4.1 : Caractéristiques physico-chimiques des échantillons prélevés dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval").



Figure 4.4.1 : Position des sites de prélèvement des échantillons dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval").

4.4. Résultats

Les volumes prélevés à chaque site étaient compris entre 60 et 85 litres. Après filtration classique sur filtres en fibre de verre de porosité à 0.7 μ m (GF/F), environ 30 litres de chacun des prélèvements ont été extraits par ELL (15 litres) et ELS (15 litres) sur résines XAD-2 et analysés en CPG/NPD. Dans chaque échantillon, on identifie la présence de simazine, atrazine, DEA et tebutam. Les résultats corrigés par rapport à un étalon interne de rendement sont présentés dans le tableau 4.4.2.

Echantillon	Salinité	SIMA (ng	ZINE .l ⁻¹)	ATRA (ng	ZINE .l ⁻¹)	D) (ng	EA g.l ⁻¹)	TEBU (ng	JTAM .l ⁻¹)
		ELL	ELS	ELL	ELS	ELL	ELS	ELL	ELS
Poses	0.2	88	79	157	142	68	97	348	288
seav 5	3.7-4.7	87	76	133	124	44	74	314	299
seav 21	15	45	44	90	91	45	55	127	146
seav 16	34.5	8	8	14	14	9	10	7	8

Tableau 4.4.2 : Concentrations (ng.l⁻¹) en simazine, atrazine DEA et tebutam dans les échantillons prélevés sur l'estuaire de la Seine en octobre 1993. Extractions liquide-liquide et liquide-solide sur résines XAD-2.

Les résultats obtenus pour la simazine, l'atrazine et la DEA par les deux méthodes d'extraction sont très proches, soulignant la précision de nos méthodes de dosage. Les concentrations plus élevées enregistrées pour la DEA par ELS sur XAD-2 confirment les résultats obtenus lors de l'évaluation des performances de cette méthode (Chapitre 2).

Ultra-Filtration Tangentielle

Les échantillons d'eau filtrée sur 0.7 μ m ont été ensuite ultra-filtrés sur membranes minérales tubulaires. Deux membranes différant par leurs compositions chimiques et leurs porosités ont été utilisées : une membrane en alpha-alumine de porosité 50000 dalton sur les quatre échantillons, et une membrane en zircone de porosité 10000 dalton sur l'échantillon marin S = 34.5 et l'échantillon prélevé à S = 3.7-4.7. Entre 20 et 30 litres d'échantillon ont été filtrés sur les membranes ; la filtration est arrêtée lorsque l'on récupère environ 1 litre de concentrat.

4.4.1. Séparation du COD

Parallèlement aux dosage des herbicides dans les différentes fractions, des quantités aliquotes de filtrat et concentrat sont prélevées et stockées à -20°C pour analyse ultérieure du COD par HTCO. Le suivi de ce paramètre est fondamental dans le cadre de cette étude, car la matière organique contrôle majoritairement la sorption des composés sur les colloïdes (Means et Wijayaratne, 1982 ; Sigleo et Means, 1990). Le

dosage du COD nous permet de suivre au mieux le contenu en matière organique des différentes fractions ultra-filtrées. Les valeurs obtenues sont présentées dans le tableau 4.4.3.

			C	Carbone Organ	ique en µmol	.l ⁻¹	
Echantillon	Salinité	Eau filtrée 0.7 μm	Filtrat 50 kd	Concentrat 50 kD	COC	Filtrat 10 kD	Concentrat 10 kD
Poses	0.2	419	323	1683	1360 (11%)		
seav 5	3.7-4.7	253	263	446	183 (4.7%)	67	556
seav 21	15	202	183	522	339 (7.1%)		
seav 16	34.5	70	68	189	121 (10.8%)	44	241

Tableau 4.4.3 : Concentrations en COD et COC (μ mol.l⁻¹) dans l'eau filtrée à 0.7 μ m et dans les différentes
fractions ultra-filtrées à 50 kD et 10 kD.

Les membranes que nous avons utilisées concentrent effectivement la fraction colloïdale du COD total (dissous + colloïdal) : les concentrats présentent un enrichissement en COD par rapport aux filtrats. La part du COD total constituée de Carbone Organique Colloïdal (COC) compris entre 0.7 µm et 35 nm (50 kD, Sempéré *et al.*, 1994), varie selon l'échantillon entre 4.7 et 11 %.

Les bilans de masse en COD calculés sur la membrane à 50 kD sont équilibrés : la membrane n'est donc pas source de contamination, et ne retient pas de carbone organique. Par contre, les bilans effectués sur la membrane à 10 kD indiquent une rétention de 50% et 18% du carbone organique pour les échantillons seav-5 et seav-16 respectivement.

4.4.2. Partage des herbicides

Pour chaque échantillon, le filtrat et le concentrat ont été récupérés puis extraits pour l'analyse des herbicides. Le filtrat est extrait par ELL et ELS sur résine XAD-2 à pH voisin de 2 ; le concentrat est extrait en ampoule à décanter par ELL au dichlorométhane.

Membrane 10 kD

Les résultats obtenus sur la membrane en carbone graphite à 10 kD indiquent un phénomène de rétention des herbicides par la membrane. Pour les deux échantillons traités sur cette membrane (seav-5 et seav-16), on ne retrouve en effet aucun herbicide

dans le filtrat récupéré après l'UFT. En considérant les poids moléculaires des herbicides étudiés, cette perte ne peut être due à un phénomène de séparation mais bien à un processus de rétention des composés par la membrane. De plus, les concentrations en herbicides retrouvées dans le concentrat de l'échantillon seav-5 sont identiques à celles de l'eau filtrée seulement sur 0.7 µm. La désorption des composés a été obtenue par un rinçage de la membrane avec un mélange de méthanol et dichlorométhane.

Membrane 50 kD

Les résultats obtenus sur les herbicides dans les différentes fractions ultra-filtrées sur la membrane à 50 kD sont présentés dans les tableaux 4.4.4 à 4.4.7. Les résultats sont exprimés en concentration (ng.l⁻¹) en herbicides dans chaque fraction, afin de constater un éventuel enrichissement en herbicides dans le concentrat par rapport au filtrat.

Echantillon	Composé ng.l ⁻¹	Eau filtrée 0.7 μm	Filtrat ELL 50 kD Dissous vrai	Concentrat ELL 50 kD	Colloïdal (%)
Poses	Simazine	88	80	107	-
7-10-93	Atrazine	157	154	165	
S = 0.2 DEA		68	55	143	4.3
	Tebutam	348	307	307	-

Tableau 4.4.4 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA et tébutam dans les différentes fractions de l'échantillon prélevé dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval") à Poses.

Echantillon	Composé ng.l ⁻¹	Eau filtrée 0.7 μm	Filtrat ELL 50 kD Dissous vrai	Concentrat ELL 50 kD	Colloïdal (%)
Seav 5	Simazine	87	97	95	
8-10-93	Atrazine	133	139	140	
S = 3.7-4.7	DEA	44	56	72	1.4
	Tebutam	314	297	282	

Tableau 4.4.5 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA et tébutam dans les différentes fractions de l'échantillon prélevé dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval") à salinité 4.

Echantillon	Composé ng.l ⁻¹	Eau filtrée 0.7 μm	Filtrat ELL 50 kD Dissous vrai	Concentrat ELL 50 kD	Colloïdal (%)
Seav 21	Simazine	45	48	49	
12-10-93	Atrazine	90	101	93	
S = 15	DEA	45	56	113	5.4
	Tebutam	127	157	115	

Tableau 4.4.6 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA et tébutam dans les différentes fractions de l'échantillon prélevé dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval") à salinité 15.

Echantillon	Composé ng.l ⁻¹	Eau filtrée 0.7 μm	Filtrat ELL 50 kD Dissous vrai	Concentrat ELL 50 kD	Colloïdal (%)
Seav 16	Simazine	8	7	8	
11-10-93	Atrazine	14	13	14	
S = 34.5	DEA	9	8	11	2
	Tebutam	7	8	8	

Tableau 4.4.7 : Concentrations en simazine, atrazine, DEA et tébutam dans les différentes fractions de l'échantillon prélevé dans l'estuaire de la Seine en octobre 1993 (Campagne "Seine-Aval") à salinité 34.5.

Les concentrations des trois herbicides simazine, atrazine et tebutam sont analytiquement semblables dans les différentes fractions étudiées (eau filtrée à 0.7 µm; eau filtrée à 50 kD, et concentrat). Ces herbicides ne montrent donc pas de partage préférentiel dans la fraction colloïdale enrichie en carbone organique du concentrat. Ces résultats vont à l'encontre de ceux précédemment rapportés par Means et Wijayaratne (1982) et Means *et al.* (1983) qui obtenaient des coefficients de partage élevés de l'atrazine sur les colloïdes organiques estuariens. Il est intéressant de remarquer que le tébutam et l'atrazine, dont les solubilités aqueuses diffèrent d'un facteur 30 (tebutam : 1000 mg.l⁻¹, atrazine : 33 mg.l⁻¹ à 25°C), ne présentent pas de comportement différent vis-à-vis de leur partage en phase colloïdale.

L'examen des résultats concernant la DEA montrent par contre un comportement différent de ce composé. Les concentrations obtenues dans le concentrat des différents échantillons sont plus élevées que celles obtenues sur le filtrat. Il semble donc qu'une partie (entre 2 et 5.4%) de la DEA soit associée à une fraction colloïdale comprise entre 0.7 µm et environ 35 nm. Si l'on rapporte la concentration en DEA à celle du COD dans chaque fraction (filtrat et concentrat), les valeurs obtenues, en masse de DEA par masse de COD, sont plus faibles dans le concentrat que dans le filtrat. Ceci suggère que la DEA n'est associée qu'avec une fraction du carbone organique colloïdal séparé par la membrane à 50 kD.

Ces résultats ne constituent que des données préliminaires, et ne sauraient être représentatifs d'une situation générale, et nécessitent de ce fait d'être confirmés. Ces résultats ne concernent en effet qu'un site d'étude à une saison donnée. De plus, le seuil de coupure que nous avons utilisé, limité par les membranes minérales existant sur le marché, constitue une limite élevée par rapport à ceux utilisé précédemment (Means et Wijayaratne, 1982). Toutefois, les études similaires actuellement en cours au laboratoire CCM de Nantes sur différents estuaires et à d'autres périodes de l'année semblent confirmer les observations effectuées sur la Seine.

Notre étude du partage des herbicides en phase colloïdale nécessiterait à l'avenir une caractérisation de la nature du matériel colloïdal (organique ou inorganique). Elle pourrait être également étendue à une gamme de composés plus large.



ETUDE COMPAREE DES DIFFERENTS SYSTEMES ESTUARIENS

1. Nature des composés identifiés en phase dissoute	183
2. Notion d'empreinte	185
3. Niveaux de concentration	187
4. Flux journaliers	189
5. Comportement géochimique au cours de la dilution estuarienne	191
6. Rapport DEA/atrazine (DAR)	194



ETUDE COMPAREE DES DIFFERENTS SYSTEMES ESTUARIENS

Nous discuterons dans ce chapitre des résultats obtenus sur les différents systèmes estuariens que nous avons étudiés en examinant en particulier la nature des composés identifiés en phase dissoute, leurs niveaux de concentration et les flux bruts journaliers entrant dans les estuaires. La dilution conservative des composés sera comparée dans les différents systèmes, et l'évolution du rapport DEA/atrazine le long des profils estuariens sera examinée.

1. Nature des composés identifiés en phase dissoute

Les pesticides identifiés en phase dissoute dans les eaux estuariennes et côtières sont essentiellement des herbicides. Parmi eux, deux molécules appartenant à la famille des chloro-triazines sont présentes dans tous les sites étudiés et à toutes périodes de l'année : la simazine et l'atrazine. Ces résultats mettent en évidence leur mobilité et leur persistance dans l'environnement.

En dehors de ces deux chloro-triazines, d'autres herbicides sont identifiés en phase dissoute. Les principaux sont la terbuthylazine (chloro-triazine), le tebutam (amide), l'alachlor et le métolachlor (acétanilides).

L'un des produits de dégradation de l'atrazine, la DEA, est détectée tout comme l'atrazine de façon ubiquiste et perenne. La DIA, qui peut provenir de la dégradation de l'atrazine ou de la simazine, n'est identifiée que de façon plus ponctuelle. La DIA est rapidement dégradée en DDA : elle possède donc une persistance moins grande que celle de la DEA (Mills et Thurman, 1994 b). D'autre part, la simazine est présente en quantité moins importante que l'atrazine. Par ailleurs, la DIA est plus difficilement extraite au sein des matrices aqueuses, limitant ainsi la possibilité de la détecter.

Plusieurs explications justifient la prépondérance des herbicides au sein des composés identifiés dans les eaux. Au niveau national, les herbicides sont utilisés en quantités plus importantes (36000 tonnes/an) que ne le sont les autres produits phytosanitaires de nature organique (fongicides organiques : environ 26000 tonnes/an, insecticides : < 7000 tonnes/an). Parmi eux, les triazines se situent au premier rang des herbicides utilisés annuellement, avec 7000 tonnes dont 6000 tonnes d'atrazine (Collet, 1988). D'autre part, le traitement des cultures par les composés herbicides s'effectue sur des surfaces étendues, concourant ainsi à l'étendue de leur dispersion. Par ailleurs, ces produits possèdent des caractéristiques physico-chimiques rendant possible leur transport vers le milieu aquatique.

La comparaison des composés identifiés par rapport à la liste des composés prioritaires établie à l'échelle nationale par le Comité de liaison "eau-produits phytosanitaires "conduit à plusieurs remarques.

Certains des herbicides détectés dans nos échantillons ne figurent pas dans la liste des matières actives "à risque" pour la contamination des eaux superficielles (annexe 1) : le tebutam et le métolachlore n'y figurent par exemple pas. Par contre, l'atrazine, la simazine, la terbuthylazine et l'alachlore font partie de cette liste. D'une façon générale, on peut également signaler que les listes établies tant au niveau national qu'au niveau Européen ne mentionnent jamais les produits de dégradation des produits phytosanitaires. Nous avons cependant démontré dans le cas particulier de la DEA que la distribution spatiale et temporelle de ce composé dans l'environnement aquatique était aussi importante que celle de l'atrazine.

Certains composés, s'ils sont peu rémanents ou peu mobiles, sont susceptibles de ne pas être transportés jusqu'au milieu estuarien. Cependant, les critères de demi-vie, de solubilité en phase aqueuse et de coefficient d'adsorption dans les sols ont été pris en compte dans l'établissement des listes de substances prioritaires dans la contamination de l'environnement aquatique superficiel (Jouany et Dabene, 1994).

La gamme des substances identifiées dans les échantillons est dépendante des techniques analytiques choisies. A l'heure actuelle, il n'existe pas de méthode

184

multi-résidus capable d'identifier la totalité des produits phytosanitaires utilisés sur le marché. Les techniques que nous avons utilisées, tant au niveau de l'extraction des composés que de leur séparation et de leur identification (CPG/NPD et CPG/SM), permettent la détection d'une gamme très étendue de pesticides, à des niveaux de traces dans les matrices aqueuses et particulaires. Ces techniques sont adaptées à l'analyse des produits apolaires à moyennement polaires, stables thermiquement et volatilisables dans les conditions chromatographiques utilisées.

2. Notion d'empreinte

Au cours de nos études, nous avons effectué un très grand nombre d'analyses sur des échantillons d'eau prélevés dans les différents estuaires des côtes françaises (Seine, Charente, Gironde, Rhône). Nous avons voulu comparer de façon qualitative les chromatogrammes obtenus en CPG/NPD sur ces différents estuaires. L'objectif de ce travail était de déterminer une empreinte chromatographique caractéristique de chaque estuaire en détection NPD.

Afin de pouvoir comparer les chromatogrammes saisis dans des conditions chromatographiques différentes, sur une période de temps pouvant atteindre quelques années, les signaux ont tout d'abord été recalés en temps de rétention par une méthode informatique appropriée, puis traités de manière à isoler dans chacun d'eux les pics uniques, donc caractéristiques de chaque estuaire.

Les signaux obtenus en CPG/NPD sur colonne non polaire (DB5) à partir des extraits d'échantillons prélevés au niveau des faibles salinités dans les estuaires de la Gironde (juin 1993), de la Charente (février 1992), de la Seine (octobre 1993) et du Rhône (juillet 1992) ont ainsi été comparés. Les chromatogrammes obtenus après recalage sont présentés en (a) sur les figures 5.1 pour le Rhône et A5.1 à A5.3 (Annexe 5) pour les trois autres sites. On a représenté les signaux entre 5 et 30 minutes seulement car la majorité des pics éluent entre ces temps de rétention sur la colonne non polaire. Sur ces figures apparaissent également en (b) les signaux correspondant aux pics uniques de chacun des estuaires.

Parmi les quatre estuaires étudiés, celui de la Gironde présente l'empreinte la moins caractéristique : seulement deux pics sont détectés comme étant uniques. C'est également sur cet estuaire que l'on retrouve le chromatogramme le moins chargé. Le delta du Rhône présente quant à lui une empreinte caractéristique plus marquée (figure 5.1). Sur l'ensemble des chromatogrammes, la majorité des pics détectés comme étant uniques n'ont pas été identifiés, excepté le tebutam sur la Seine. Ce composé avait été détecté sur la Gironde au mois de février 1992, mais n'apparaissait pas en juin 1993.

Il apparait donc que les chromatogrammes possédant une signature caractéristique en CPG/NPD soient ceux obtenus sur les eaux de la Seine et du Rhône. Ces deux fleuves possèdent de grands bassins versants (75000 et 99000 km² respectivement) qui drainent des régions non seulement agricoles mais aussi industrielles et urbaines importantes, entrainant un apport de composés organiques divers issus de ces activités.



Figure 5.1 : (a) : chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon prélevé en Arles en juillet 1992. (b) : signal correspondant aux pics uniques. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine, 4. terbuthylazine.

Nous avons également déterminé les pics détectés de façon constante dans les quatre estuaires : ces pics sont présentés sur la figure 5.2. Ils éluent entre 10 et 18 minutes. On y identifie la DEA, la simazine, l'atrazine et la terbuthylazine. Un pic coéluant avec la DIA est présent (b1), ainsi qu'un pic (b2) éluant juste après l'atrazine. Ces deux pics sont présents de façon permanente dans les blancs de manipulation (Chapitre 2, § 4.4).


Figure 5.2 : Chromatogramme des composés communs aux quatre estuaires étudiés. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine, 4. terbuthylazine. b1 et b2 sont présents dans les blancs de manipulation.

3. Niveaux de concentration

Les concentrations en herbicides ont été déterminées en phase dissoute le long du gradient de salinité des estuaires. La spatio-temporelle de nos résultats permet une première étude comparative des eaux estuariennes des côtes françaises. Les niveaux de concentration en simazine, atrazine et DEA sont présentés dans le tableau 5.1 en fonction de trois zones de salinité : S inférieures à 5, S comprises entre 5 et 30, et S supérieures à 30.

Les concentrations diminuent des zones de faibles salinités vers les zones de salinités élevées. Dans les eaux de faibles salinités, elles sont comprises entre 18 ng.l⁻¹ et 299 ng.l⁻¹ pour la simazine et entre 33 ng.l⁻¹ et 591 ng.l⁻¹ pour l'atrazine. Au niveau des fortes salinités, elles varient entre 5 ng.l⁻¹ et 63 ng.l⁻¹ pour la simazine et entre 4 ng.l⁻¹ et 70 ng.l⁻¹ pour l'atrazine.

Les concentrations les plus élevées sont obtenues sur la Gironde au mois de juin 1993, avec 299 ng.l⁻¹ pour la simazine et 591 ng.l⁻¹ pour l'atrazine. Ces plus fortes concentrations enregistrées au mois de juin sont liées à la période d'épandage des produits sur les cultures (avril à juillet). Les maxima de concentration en DEA sont enregistrés sur la Seine en octobre 1993, avec 110 ng.l⁻¹.

CLIER	BEDIODEC	Faibles Salinités			Zone Intermédiaire			Hautes Salinités		
SITES PERIODES		S < 5			5 < S < 30			S > 30		
		Simazine	Atrazine	DEA	Simazine	Atrazine	DEA	Simazine	Atrazine	DEA
Seine (1)	Octobre 93	100-52	175-108	110-38	84-22	128-38	60-21	15-5	32-10	13-6
Charente	Février 92	42-33	63-56	102-46	35-15	63-23	80-20	11-5	14	19
Gironde	Février 92	21-18	35-33	23-14	20-10	27-11	23-10	9	9	8
	Juin 93	299-161	591-349	75-48	249-98	430-122	60-27	63-13	70-13	15-9
Rhône	Juillet 92	49-38	168-114	58-48	40-10	170-33	51-9	5	4	5

Tableau 5.1 : Contamination des eaux estuariennes et marines côtières par deux herbicides de la famille des chloro-triazines (simazine et atrazine) et un de leurs produits de dégradation (DEA). Niveaux de concentrations exprimés en ng.l⁻¹.

(1): Tronczynski et al, 1995.

Nos résultats montrent que les concentrations en atrazine sont toujours plus élevées que les concentrations en simazine. Ceci est probablement du en partie aux différences existant au niveau des quantités utilisées. Le rapport atrazine/simazine, toutes périodes confondues, est compris entre 1.5 et 2.2 sur la Charente, la Gironde et la Seine pour les eaux de faibles salinités. Sur le Rhône, en raison des niveaux de concentration plus faibles en simazine, ce rapport est plus élevé : il est compris entre 3 et 3.4 dans les eaux de faibles salinités. Les informations dont nous disposons sur l'occupation des terres agricoles par les différentes cultures ne permettent pas d'expliquer cette différence (tableau 5.2).

SITE	Bassin versant	SAU	Céréales	Maïs	Vignes	Autres
	(km ²)	(km ²)	(ha)	(ha)	(ha)	(ha)
Seine	75000	60000	2.52 x 10 ⁶	480000	Environ	Betterave 300000
Charente	10000	7500	(42%) 300000 (40%)	(8%)	(1%) 75000 (10%)	(5%) Cultures fourragères 300000 (40%)
Gironde	87000	42000	672000 (16%)	420000 (10%)	168000 (4%)	Colza 168000 (4%)
Rhône	99000	14850	504900 (34%)	193050 (13%)	207900 (14%)	Arbres fruitiers 89100 (6%)

Tableau 5.2 : Comparaison des Surfaces Agricoles Utilisées (SAU) et de leur occupation sur les différents bassins versants. (D'après Collet, 1988 et AGRESTE, 1993).

4. Flux journaliers

Les flux bruts journaliers ont été évalués sur chacun des estuaires étudiés : ils représentent les flux entrant dans la zone estuarienne. Ils ont été calculés de la façon suivante :

F = Qj x Ci

où F est le flux brut journalier en kg.j⁻¹, Qj le débit journalier du fleuve et Ci la concentration instantanée du composé en phase dissoute au moment du prélèvement.

Les résultats ainsi calculés sont présentés dans le tableau 5.3.

SITE	PERIODE		Débit journalier (m ³ .s ⁻¹)	Débit annuel moyen (m ³ .s ⁻¹)	CFLEUVE (ng.l ⁻¹)	CMER (ng.l ⁻¹)	FLUX BRUT JOURNALIER (kg.j ⁻¹)	
CHARENTE	Mai 91		31	34	124* (A)	10 (A)	0.33 (A)	
					135* (S)	8 (S)	0.36 (S)	
	Février 92		22.5	33	62 (A)	14 (A)	0.12 (A)	
					42 (S)	5 (S)	0.08 (S)	
					56 (DEA)		0.11 (DEA)	
GIRONDE	Février 92		473	800	35 (A) 18 (S) 14 (DEA)	9 (A) 9 (S) 8 (DEA)	1.4 (A) 0.7 (S) 0.6 (DEA)	
	L: 02	C	557	570	349 (A)		16.8 (A)	Total
	Juin 93	Garonne	557	572	161 (S)		7.7 (S)	
					97 (DEA)	13 (A)	4.7 (DEA)	25.1 (A)
						13 (S)		12.1 (S)
		Dordogne	232	329	416 (A) 222 (S)	10 (DEA)	8.3 (A) 4.4 (S)	6.3 (DEA)
					80 (DEA)		1.6 (DEA)	
SEINE	Octobre 93		543	407	157 (A)	14 (A)	7.4 (A)	
					88 (S)	8 (S)	4.1 (S)	
					97 (DEA)	10 (DEA)	4.6 (DEA)	
RHONE	Juillet 92		1480	1700	168 (A) 49 (S) 58 (DEA)	4 (A) 5 (S) 5 (DEA)	21.5 (A) 6.3 (S) 7.4 (DEA)	

(A)=Atrazine, (S)=Simazine, (DEA)=Dé-éthylatrazine. * Données établies par le CID-CSIC, Barcelone (Durand et Barcelo, communication personnelle).

Tableau 5.3 : Concentrations fluviales et marines (ng. l^{-1}) et flux bruts journaliers en simazine, atrazine, et DEA dans quatre estuaires ou delta des côtes françaises.

Les flux bruts les plus élevés sont enregistrés pour l'atrazine et la simazine sur l'estuaire de la Gironde en juin 1993. Ils sont dus pour les deux tiers aux apports de la Garonne. Les flux calculés sur ce fleuve en février 1992 sont 12 fois et 11 fois plus faibles que ceux enregistrés en juin 1993 pour l'atrazine et la simazine respectivement. Les flux en atrazine enregistrés sur le Rhône sont du même ordre de grandeur que ceux de la Gironde. Quelque soit la période de l'année, les flux les plus faibles sont obtenus sur l'estuaire de la Charente. Ils sont liés aux faibles débits de la Charente.

Les concentrations en atrazine en période d'épandage (mai ou juillet) dans les eaux de faible salinité sont du même ordre de grandeur sur le Rhône et la Charente (tableau 5.3). Le bassin versant du Rhône possède cependant une SAU deux fois plus faible que celui de la Charente (tableau 5.2). Squillace et Thurman (1992) ont montré qu'en période d'épandage, le logarithme de la concentration en atrazine dissoute dans un fleuve était en fait corrélé de façon linéaire avec le logarithme du rapport entre le débit du fleuve et la surface de son bassin versant.

5. Comportement géochimique au cours de la dilution estuarienne

Tous les herbicides étudiés présentent un comportement de type conservatif au cours de la dilution estuarienne, et ce quelque soit la période de l'année considérée. La DEA, issu de la dégradation de l'atrazine dans les sols, est présente dans les eaux estuariennes, et montre également un profil de dilution de type conservatif : ce composé ne subit donc pas de dégradation au cours de son transport dans l'estuaire.

Les équations de droite obtenues par régression linéaire calculée sur tous les points d'un même profil sont peu différentes de celles que l'on obtient par calcul de la dilution conservative théorique. Le tableau 5.4 présente ces différentes équations pour la simazine, l'atrazine et la DEA. Les équations de régression linéaire présentent des coefficients de détermination généralement significatifs à 0.1%. La similitude existant entre les intercepts et les pentes des droites calculées selon les deux méthodes supportent l'hypothèse du comportement conservatif des composés.

	Régression linéaire	Dilution conservative théorique		
	C = 63 - 1.55 x S (Atr)	C = 62 - 1.46 x S (Atr)		
Charente février 92	C = 38 - 0.95 x S (Sim)	C = 42 - 1.13 x S (Sim)		
	C = 50 - 1.18 x S (DEA)	C = 57 - 1.24 x S (DEA)		
Gironde février 92	C = 33 - 0.78 x S (Atr)	C = 35 - 0.86 x S (Atr)		
	C = 21 - 0.31 x S (Sim)	C = 18 - 0.3 x S (Sim)		
	C = 482 - 14 x S (Atr)	C = 459 - 13 x S (Atr)		
Gironde juin 93	C = 270 - 6.9 x S (Sim)	C = 270 - 7.5 x S (Sim)		
	C = 67 - 1.7 x S (DEA)	C = 73 - 1.8 x S (DEA)		
	$C = 162 - 4 \times S$ (Atr)	C = 169 - 4.3 x S (Atr)		
Dhâna inillat 02		C = 115 - 2.9 x S (Atr)		
Kilone Jumet 92	C = 43 - 0.95 x S (Sim)	C = 49 - 1.2 x S (Sim)		
		C = 44 - 1.0 x S (Sim)		
	C = 52 - 1.3 x S (DEA)	C = 58 - 1.4 x S (DEA)		
		C = 55 - 1.3 x S (DEA)		

 Tableau 5.4 : Comparaison des équations de régression linéaire et des équations de dilution théorique obtenues sur les différents profils estuariens.

Pour l'ensemble des composés et des systèmes estuariens que nous avons etudiés, le rapport entre la concentration en zone fluviale (C_0) et la pente des droites est constant : il est en moyenne de 40.5 (n = 13) excepté pour la simazine en Gironde en février 1992. La figure 5.3 présente la variation de ce rapport en fonction des concentrations en zone fluviale. La constance de ce rapport permet d'établir une équation de dilution théorique des composés à partir de la seule concentration C_0 mesurée en zone fluviale. De façon similaire, la pente des droites varie en fonction des concentrations fluviales C_0 selon une relation linéaire significative.

192



Figure 5.3 : Variation du rapport C_0 /pente des droites de dilution théorique en fonction de la concentration fluviale C_0 .

Des écarts aux droites de dilution conservative ont été parfois observées sur nos profils estuariens. Ils étaient dus à deux types de phénomènes. Sur la Charente, ils étaient dus à la contribution du canal de Charras sous la forme d'un apport latéral en eau dont les teneurs en herbicides différaient de celles de l'estuaire. Par ailleurs, les variations des concentrations au niveau de la référence fluviale ont conduit à des profils de dilution non conservative en apparence. Ceci souligne la nécessité de suivre les variations temporelles des concentrations au niveau des références fluviales avant la période d'échantillonnage dans l'estuaire. Des écarts peuvent également être observé en réponse à des variations de concentration au niveau de la zone marine des estuaires (Loder et Reichard, 1981).

La connaissance des constantes de temps caractéristiques des estuaires est fondamentale dans l'interprétation des résultats. Aucun processus de dégradation n'ayant une cinétique supérieure au temps de renouvellement des eaux ne peut en effet être mis en évidence. Au moment des prélèvements, le temps de renouvellement de l'eau douce dans les systèmes estuariens que nous avons étudiés était au maximum de l'ordre de 30 jours (Gironde). L'observation du comportement conservatif des herbicides et de la DEA au cours du mélange estuarien suggère donc que les cinétiques de dégradation de ces composés dans la colonne d'eau sont lentes. De plus, nos expériences de suivi des concentrations en herbicides au cours du stockage d'un échantillon naturel au laboratoire ont indiqué que la rémanence des composés était élevée.

Chapitre 5

En raison du comportement conservatif des composés dans les estuaires, les flux nets, représentant les flux apportés en zone marine cotière (ou flux sortant de l'estuaire), que l'on évalue en extrapolant à S = 0 la droite obtenue sur les points salins, sont équivalents aux flux bruts entrant dans l'estuaire, calculés au niveau des références fluviales. Ceci n'est toutefois valable que si les concentrations fluviales restent constantes pendant la durée de renouvellement de l'eau dans l'estuaire.

En amont de l'estuaire, le transport de l'atrazine dans les fleuves s'effectue également de façon conservative sur des distances pouvant être importantes (Pereira *et al*, 1989 ; Pereira et Rostad, 1990 ; Squillace *et al.*, 1993).

6. Rapport DEA/atrazine (DAR)

6.1. Variations du DAR

L'examen de l'ensemble de nos résultats indique que le DAR est moins élevé en période d'épandage des produits qu'en période hivernale : au mois de février, il est en moyenne de 1.02 et 0.80 sur la Charente et la Gironde respectivement, et de 0.35, 0.28 et 0.39 sur la Charente, la Gironde et le Rhône respectivement aux mois de mai, juin et juillet (moyennes sur l'ensemble des points des profils estuariens).

Ce rapport dépend du temps écoulé depuis l'application de l'atrazine sur les cultures : plus le temps écoulé depuis l'application est grand, plus le rapport est élevé, indiquant une transformation de l'atrazine en DEA. Le DAR constitue donc un indicateur du temps de séjour de l'atrazine dans les sols (Pereira et Rostad, 1990).

Ce rapport a été proposé par plusieurs auteurs comme indicateur de la source principale des composés dans les rivières. Des valeurs relativement plus faibles du DAR indiquent une contribution de l'eau de ruissellement de surface entraînant les produits fraîchement appliqués, alors que des valeurs plus élevées indiquent une contribution de l'eau souterraine (Pereira et Hostettler, 1993 ; Adams et Thurman, 1991).

6.2. Evolution du DAR le long des profils estuariens

Les figures 5.4 et 5.5 montrent l'évolution du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction de la salinité sur les profils estuariens de la Gironde et du Rhône en juin-juillet (figure 5.4) et de la Charente et de la Gironde en février (figure 5.5).



Figure 5.4 : Evolution du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction de la salinité sur les profils estuariens de la Gironde et du Rhône au mois de juin-juillet.



Figure 5.5 : Evolution du rapport DEA/atrazine (DAR) en fonction de la salinité sur les profils estuariens de la Charente et de la Gironde au mois de février.

Chapitre 5

Au mois de juin-juillet sur la Gironde et le Rhône, une augmentation du rapport DAR est observée dans les eaux de salinités élevées (supérieures à 34). Sur l'ensemble des points, ce rapport est en moyenne de 0.28 sur la Gironde et de 0.39 sur le Rhône. A partir de la salinité 34, il augmente par rapport à la moyenne d'un facteur 2.4 sur la Gironde et d'un facteur 3.2 sur le Rhône. Cette augmentation n'est pas observée au mois de février sur la Charente et la Gironde. De même, selon les résultats obtenus dans notre laboratoire sur l'estuaire de la Seine au début du mois d'octobre 1993, on n'observait pas d'augmentation du DAR pour des eaux de salinités élevées (jusqu'à 34.5).

L'augmentation du DAR intervient donc seulement à des salinités élevées caractéristiques des eaux marines, et seulement en période proche de celle de l'épandage de l'atrazine. Les valeurs obtenues en zone marine sont alors voisines de 0.8 sur la Gironde, et de 1.2 sur le Rhône. Ces valeurs sont de l'ordre de grandeur de celles enregistrées dans les eaux estuariennes en dehors de la période d'épandage des produits. Les eaux marines sont en fait caractérisées par des valeurs du DAR plus élevées, et ce quelque soit la période de l'année. Les valeurs plus élevées du DAR telles que nous les avons observées résultent en fait de l'influence en amont des eaux estuariennes caractérisées à cette période par un rapport plus faible.

L'augmentation du DAR en fonction de la salinité ne peut être attribué à un effet positif de l'augmentation de la force ionique sur l'efficacité d'extraction (*salting-out*), puisque l'augmentation du DAR n'est pas systématiquement observée pour des salinités élevées. L'effet de la force ionique sur l'efficacité d'extraction des composés dissous a fait l'objet de plusieurs études, menant à des conclusions différentes. Quelques auteurs ont montré que les rendements d'extraction liquide-liquide des triazines et de leurs produits de dégradation étaient sensiblement meilleurs dans l'eau de mer artificielle ou après ajout de chlorure de potassium que dans l'eau distillée (Janda et Marha, 1985 ; Durand et Barcelo, 1989). Sur les résines XAD, la force ionique augmente les facteurs de capacité des composés organiques hydrophobes (Thurman *et al.*, 1978). Junk *et al.* (1974) ne rapportent cependant aucun effet de l'ajout de NaCI (à 50 g.l⁻¹) sur l'efficacité d'extraction d'une large gamme de composés organiques sur ces résines. Sur phase styrene-divinylbenzene (PLRP-S), un ajout de NaCI n'entraine aucun effet positif sur l'efficacité d'extraction de divers pesticides (Slobodnik *et al.*, 1992).

196



CONCLUSIONS

Les recherches entreprises au cours de cette thèse s'inséraient dans une problématique générale d'étude du comportement géochimique de composés organiques dans les zones côtières. Nos travaux ont porté plus particulièrement sur une catégorie de contaminants d'origine exclusivement anthropique : les herbicides.

La compréhension du comportement géochimique de composés organiques en milieu estuarien est essentielle pour évaluer leur transport, leur dispersion et leur devenir dans l'environnement. Nos études fournissent des informations nécessaires au calcul des bilans massiques du transport des composés vers le milieu océanique. Elles donnent également des informations judicieuses dans des domaines de recherche divers tels que ceux relatifs à la modélisation du transport des contaminants en zone côtière, ou encore les études concernant les effets biologiques des contaminants en milieu aquatique côtier. Par ailleurs, ces études permettent d'aborder les problèmes liés à la protection et la gestion de l'environnement côtier.

Notre étude avait comme premier objectif d'établir une stratégie d'échantillonnage et des méthodes analytiques qui soient adaptées à l'identification et la quantification des herbicides et de leurs produits de dégradation en milieu estuarien et marin côtier. Elle visait également à préciser la présence et les niveaux de concentrations de composés herbicides dans différents sites répartis le long des côtes françaises, et à déterminer leur comportement géochimique dans les zones estuariennes au cours de leur transport vers le milieu océanique.

Stratégies d'étude et développement analytique

Nos résultats ont apporté des informations nouvelles quant au choix des techniques et des protocoles analytiques à mettre en oeuvre pour détecter et quantifier de façon précise les herbicides présents à l'état de traces dans les échantillons naturels, ainsi que leurs principaux produits de dégradation. Les développements des méthodes et les procédures d'assurance de qualité des résultats que nous avons mis en place au laboratoire nous ont permis de fournir des données fiables. Ces procédures d'assurance de qualité des données se sont avérées essentielles pour notre projet de recherche, en raison des faibles niveaux de concentration rencontrés et des systèmes étudiés. La mise au point de l'ELS sur résines XAD-2 s'est avérée très performante pour l'analyse conjointe des herbicides et des produits de dégradation ; cette technique offre en outre des possibilités nouvelles quant aux possibilités d'échantillonnage automatique. Au niveau de la stratégie d'échantillonnage, nos études ont souligné l'importance de déterminer les variations des concentrations en composés au niveau des références fluviales pour interpréter les droites de dilution estuarienne. Ceci implique de prévoir un échantillonnage avant la campagne de prélèvement dans l'estuaire.

Composés identifiés dans les eaux côtières, niveaux de présence

Les résultats acquis dans le cadre de cette étude sont parmi les premiers obtenus en France en zone estuarienne et côtière sur une couverture spatio-temporelle importante. Nos résultats ont mis en évidence la contamination des eaux côtières des trois façades maritimes françaises par des herbicides appartenant à différentes familles de composés : triazines, amides, acétanilides. Deux herbicides de la famille des chlorotriazines sont identifiés de façon majoritaire : la simazine et l'atrazine. Un des produits de dégradation de l'atrazine a été également identifié dans tous nos échantillons d'eau : la DEA. La présence de ces trois composés a été mise en évidence sur tous les sites et à toutes les périodes étudiées, montrant qu'ils sont mobiles et persistants dans l'environnement. La présence pérenne des triazines et de la DEA dans les eaux côtières indique d'une part que leur apport s'effectue sous forme de sources diffuses, et d'autre part que leur rémanence est plus élevée que celle initialement prévue selon les données de la littérature. De plus, nos expériences de stockage prolongé d'échantillons naturels n'ont mis en évidence aucun processus de dégradation dans les eaux.

La présence conjointe de l'atrazine et de la DEA, cette dernière étant parfois identifiée en quantités supérieures à celle du composé parent, souligne l'importance de prendre en compte ce produit de dégradation dans les études.

Notre stratégie d'étude du comportement géochimique des herbicides a consisté à étudier plusieurs sites, à différentes périodes de l'année. Les niveaux de concentration sont variables selon les composés, les sites et les périodes considérés. Ainsi, en raison essentiellement des différences existant entre les quantités de matière active utilisées, les concentrations en atrazine sont toujours plus élevées que celles de la simazine. D'autre part, les concentrations en herbicides sont plus importantes en période proche de l'épandage qu'en période hivernale. De même, les concentrations en DEA sont elles aussi plus importantes en période d'épandage : la déalkylation de l'atrazine s'effectue donc rapidement dans les sols. Le rapport DEA/atrazine (DAR), indicateur du temps de résidence de l'atrazine dans les sols avant son arrivée en milieu aquatique, est plus élevé en dehors de la période de traitement des cultures. La concomitance des périodes d'épandage et des concentrations en herbicides plus élevées dans les eaux indique que le transport des composés vers le milieu aquatique s'effectue rapidement, du moins en ce qui concerne la part des composés pouvant être mobilisés. Le transport rapide des produits phytosanitaires en milieu aquatique a été mis en évidence en particulier dans les canaux agricoles des Marais de Charente Maritime. Ce transport rapide était toutefois favorisé par le réseau de draînage mis en place dans ces Marais.

Comportement géochimique

Le comportement des herbicides au cours du mélange estuarien est de type conservatif ; les flux bruts calculés en zone fluviale sont égaux aux flux nets évalués par extrapolation des concentrations en zone marine. Ces flux ne dépendent donc que des débits fluviaux et des concentrations en contaminants mesurées au niveau des références fluviales. La mise en évidence du comportement conservatif des composés dans les estuaires montre qu'aucune dégradation ne se produit à l'échelle de temps considérée : aucun processus de dégradation n'ayant une cinétique inférieure au temps de renouvellement de l'eau dans l'estuaire n'est observé. De plus, aucun phénomène d'échange entre phases dissoute et particulaire ne se produit.

Les herbicides étudiés sont transportés de façon majoritaire en phase dissoute. Nous avons montré que la fraction des composés associée aux MES était très faible, inférieure à 1%. De ce fait, les sédiments ne seront pas un compartiment de stockage des triazines, et ne constituent pas une source potentielle de composés vers la colonne d'eau. La présence des herbicides en phase dissoute favorise leur mobilité et donc leur dispersion en milieu aquatique. D'autre part, ces résultats montrent que la seule prise en compte de ces composés dissous sera suffisante pour l'évaluation des bilans massiques. Nous avons également mis en évidence à titre préliminaire que les triazines ne montraient pas de processus de sorption préférentielle en phase colloïdale dans les systèmes estuariens. Etant donné la présence ubiquiste et pérenne des herbicides et de leurs produits de dégradation dans les eaux côtières, la question de leur impact sur les organismes ou les écosystèmes se pose en tant qu'effets à long terme (effets chroniques). Les niveaux de concentrations auxquels ces composés sont présents sont bien en deça des niveaux auxquels des effets ont été observés sur les organismes. Cependant, ces niveaux sont établis généralement pour un composé, parfois deux (atrazine et alachlor), le plus souvent dans des conditions recrées au laboratoire. Nos résultats suggèrent l'intérêt de déterminer les effets synergétiques ou antagonistes d'une exposition (transitoire ou prolongée) à un mélange de composés. En dehors des effets directs sur les organismes, il serait par ailleurs intéressant de s'attacher à comprendre les effets indirects des produits phytosanitaires, sur les populations ou les communautés, et à plus grande échelle sur les écosystèmes.

La présence d'un des produits de dégradation de l'atrazine de façon pérenne souligne l'importance de prendre en compte ce composé dans les études d'impact, d'autant plus qu'il conserve les propriétés phytocides des composés parents.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aceves M., Grimalt J., Albaiges J., Broto F., Comellas L., Gassiot M., 1988. Analysis of hydrocarbons in aquatic sediments. II-Evaluation of common preparative procedures for petroleum and chlorinated hydrocarbons. J. Chromatogr., 436, 503-509.
- ACTA (Association de Coordination Technique Agricole), 1994. Index phytosanitaire, 561 p.
- Adams C.D., Thurman E.M., 1991. Formation and transport of deethylatrazine in the soil and Vadose zone. J. Environ. Qual., 20, 540-547.
- AGRESTE, 1993. Statistique agricole annuelle. Ministère de l'agriculture et de la pêche, p18-25.
- Ahel M., Evans K.M., Fileman T.W., Mantoura R.F.C., 1992. Determination of atrazine and simazine in estuarine samples by high-resolution gas chromatography and nitrogen selective detection. Anal. Chim. Acta, 268, 195-204.
- Akobundu I.O., Sweet R.D., Duke W.B., Minotti P.L., 1975. Weed response to atrazine and alachlor combinations at low rates. Weed Sci., 23, 1, 67-70.
- Albanis T.A., Pomonis P.J., Sdoukos A.T., 1986. Seasonal fluctuations of organochlorine and triazines pesticides in the aquatic system of Ioannina basin (Greece). Sci. Total Environ., 58, 243-253.
- Allen G.P., 1972. Etude des processus sédimentaires dans l'estuaire de la Gironde. Thèse de doctorat d'état, Université de Bordeaux, 310 p.
- Andreae M.O., Byrd J.T., Froelich P.N., 1983. Arsenic, Antimony, Germanium and Tin in the Tejo estuary, Portugal : modeling a polluted estuary. Environ. Sci. Technol., 17, 731-737.
- Ansel J.C. Colombera P., Huet F., Ayphassorho H., 1994. Evaluation cartographique des risques de pollution d'origine agricole dans le bassin Adour-Garonne. 3ème partie : risques de pollution par les pesticides d'origine agricole dans les PRA du bassin Adour-Garonne. CEMAGREF, Agence de l'eau Adour-Garonne, 21 p + annexes.
- Avoine J., 1981. L'estuaire de la Seine : sédiments et dynamique sédimentaire. Thèse de 3ème cycle, Université de Caen, 236 p + annexes.
- Bacci E., Renzoni A., Gaggi C., Calamari D., Franchi A., Vighi M., Severi A., 1989. Models, field studies, laboratory experiments : an integrated approach to evaluate the environmental fate of atrazine (s-triazine herbicide). Agric., Ecosyst. and Environ., 27, 513-522.
- Bacher C., 1989. Etude de la capacité trophique du bassin de Marennes-Oléron : utilisation d'un modèle couplé de transport particulaire et de croissance de l'huitre Crassostrea gigas. Thèse de l'université de bretagne occidentale, 149 p.

- Ballantine L.G., Newby L.C., Simoneaux B.J., 1978. Fate of triazine in a marine environment. 4 th Int. Congress of Pesticide Chemistry. Abstract no. V-528. IUPAC, Zurich, Switzerland. (Cité par Jones et al., 1982).
- Barcelo D., 1991. Occurence, handling and chromatographic determination of pesticides in the aquatic environment. Analyst, 116, 681-689.
- **Barcelo D.**, 1993. Environmental Protection Agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. J. Chromatogr., 643, 1-2, 117-143.
- Barcelo D., Durand G., Bouvot V., Nielen M., 1993. Use of extraction disks for trace enrichment of various pesticides from river water and simulated seawater samples followed by liquid chromatography-rapid scanning UV-visible and thermospray-mass spectrometry detection. Environ. Sci. Technol., 27, 2, 271-277.
- Bellar T.A., Budde W.L., 1988. Determination of nonvolatile organic compounds in aqueous environmental samples using LC/MS. Anal. Chem., 60, 2076-2083.
- Beltran J., Lopez F.J., Hernandez F., 1993. Solid-phase extraction of pesticide residues from ground water: comparison between extraction cartridges and extraction discs. Anal. Chim. Acta, 283, 297-303.
- Benfenati E., Tremolada P., Chiappetta L., Frassanito R., Bassi G., Di Toro N., Fanelli R., Stella G., 1990. Simultaneous analysis of 50 pesticides in water samples by solid-phase extraction and GC-MS. Chemosphere, 21, 12, 1411-1421
- Bester K., Huhnerfuss H., 1993. Triazines in the Baltic and North sea. Mar. Pollut. Bull, 26, 8, 423-427.
- Bodo B.A., 1991. Trend analysis and mass-discharge estimation of atrazine in Southwestern Ontario great lakes tributaries: 1981-1989. Environ. Toxicol. Chem., 10, 1105-1121.
- Bombick D.D., Allison J., 1989. Investigation into the response mechanism of the Gas Chromatographic Thermionic Ionization Detector. Part I. Mass spectral studies. J. Chrom. Sci., 27, 612-
- Bottoni P., Funari E., 1992. Criteria for evaluating the impact of pesticides on groundwater quality. Sci. Total Environ., 123/124, 581-590.
- Boyle E., Collier R., Dengler A.T., Edmond J.M., NG A.C., Stallard R.F., 1974. On the chemical mass-balance in estuaries. Geochim. Cosmochim. Acta, 38, 1719-1728.
- Brambilla A., Rindone B., Polesello S., Galassi S., Balestrini R., 1993. The fate of triazine pesticides in river Po water. Sci. Total Environ., 132, 339-348.
- Brauch H.J., 1993. Pesticides in the river Rhine. Acta Hydrochim. Hydrobiol., 21, 137-144.
- Braumann T., 1986. Determination of hydrophobic parameters by reversed-phase liquid chromatography: theory, experimental techniques, and application in studies on quantitative structure-activity relationships. J. Chromatogr., 373, 191-225.

- Brouwer W.W.M., Boesten J.J.T.I., Siegers W.G., 1990. Adsorption of transformation products of atrazine by soil. Weed Res., 30, 123-128.
- Brouwer E.R., Van Iperen D.J., Liska I., Lingeman H., Brinkman U.A.Th., 1992. Liquid chromatographic determination of polar pollutants in surface water using membrane extraction disks for on-line trace enrichment. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 47, 257-266.
- Bulterman A.J., Vreuls J.J., Ghijsen R.T., Brinkman U.A.Th., 1993. Selective and sensitive detection of organic contaminants in water samples by on-line trace enrichment-gas chromatography- mass spectrometry. J. High Resolut. Chromatogratogr., 16, 397-403.
- Burkart M.R., Ragone S.E., Thurman E.M., Perry C.A., 1989. Planned studies of herbicides in ground and surface water in the midcontinental United States. U.S. Geological Survey toxic substances hydrology program. Proceedings of the technical meeting, Phoenix, Arizona, Sept. 1988.
- Buser H.R., 1990. Atrazine and other s-triazine herbicides in lakes and in rain in Switzerland. Environ. Sci. Technol., 24, 7, 1049-1058.
- Capriel P., Haisch A., Khan S.U., 1985. Distribution and nature of bound (nonextractable) residues of atrazine in a mineral soil nine years after the herbicide application. J. Agric. Food Chem., 33, 567-569.
- Carlson D.J., Brann M.L., Mague T.H., Mayer L.M., 1985. Molecular weight distribution of dissolved organic materials in seawater determined by ultrafiltration : a reexamination. Mar. Chem., 16, 155-171.

Chau S.Y. et Afghan B.K., 1982. Analysis of pesticides in water, Vol. I à III, CRC Press.

Chevreuil M., Garmouma M., 1993. Occurrence of triazines in the atmospheric fallout on the catchment basin of the river Marne (France). Chemosphere, 27, 9, 1605-1608.

- Chiron S., Fernandez Alba A., Barcelo D., 1993. Comparison of on-line solid-phase disk extraction to liquid-liquid extraction for monitoring selected pesticides in environmental waters. Environ. Sci. and Technol., 27, 2352-2359.
- **Collet M.**, 1988. Evaluation des transferts existants ou potentiels de produits phytosanitaires utilisés en agriculture vers le milieu marin. Rapport IFREMER, DERO-88-04-EL, 30 p. + annexes.
- Coquart V., Garcia-Camacho P., Hennion M.C., 1993. Trace-level determination of hydroxyatrazine and dealkylated degradation products of atrazine in waters. Intern. J. Environ. Chem., 52, 99-112.
- Correll D.L., Wu T.L., 1982. Atrazine toxicity to submersed vascular plants in simulated estuarine microcosms. Aquat. Bot., 14, 151-158.
- Cossa D., Meybeck M., Idlafkih Z., Bombled B., 1994. Etude pilote des apports en contaminants par la Seine. Rapport interne IFREMER, DEL, 94.13, 151 p.
- Daignault S.A., Noot D.K., Williams D.T., Huck P.M., 1988. A review of the use of XAD resins to concentrate organic compounds in water. Water Res., 22, 7, 803-813.

- De Noyelles F., Kettle W.D., Sinn D.E., 1982. The responses of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. Ecology, 63(5), 1285-1293.
- **Di Corcia A., Samperi R., Marcomini A., Stelluto S.**, 1993. *Graphitised carbon black extraction cartridge for monitoring polar pesticides in water.* Anal. Chem., 65, 907-912.
- Dorschel C.A., Ekmanis J.L., Oberholtzer J.E., Warren F.V., Bidlingmeyer B.A., 1989. *LC detectors*. Anal. Chem., 61, 17, 951A-968A.
- **Dressler M.**, 1986. *Selective gas chromatographic detectors*. J. of Chromatography library, Vol.36, Elsevier, 319 p.
- **Durand G., Barcelo D.**, 1989. Liquid chromatographic analysis of chlorotriazine herbicides and its degradation products in water samples with photodiode array detection. I. Evaluation of two liquid-liquid extraction methods. Toxicol. and Environ. Chem., 25, 1-11.
- **Durand G., Barcelo D.**, 1993. Solid-phase extraction using C18 bonded silica disks : interferences and analysis of chlorotriazines in seawater samples. Talanta, 40, 11, 1665-1670.
- Esser H.O., Dupuis G., Ebert E., Marco G.J., Vogel C., 1975. *s-Triazines*. Dans "Herbicides : chemistry, degradation and mode of action", édité par Kearney P.C. et Kaufman D.D., vol. 1, 129-208.
- **Fabre J.P.**, 1987. Elaboration et caractérisation de nouvelles membranes minérales d'ultrafiltration en TiO2 et en ZrO2, realisées par les techniques "sol-gel". Thèse de l'université de Montpellier, 156 p.
- Fairbridge R.W., 1980. The estuary: its definition and geodynamic cycle. In "Chemistry and biogeochemistry of estuaries" edited by Olausson E. and Cato I., 1-35.
- Fielding M., Barcelo D., Helweg A., Galassi S., Torstensson L., Van Zoonen P., Wolter R., Angeletti G., 1992. In *Pesticides in Ground and Drinking Water* (Water Pollution Research Report, 27), CEC, Brussels, 136 p.
- Finizio A., Di Guardo A., Arnoldi A., Vighi M., Fanelli R., 1991. Different approaches for the evaluation of Kow for s-triazine herbicides. Chemosphere, 23, 6, 801-812.
- Font G., Manes J., Molto J.C., Pico Y., 1993. Solid-phase extraction in multi-residue pesticide analysis of water. J. Chromatogr., 642, 135-161.
- Forney D.R., Davis D.E., 1981. Effects of low concentrations of herbicides on submersed aquatic plants. Weed Sci., 29, 677-685.
- Frank R., Sirons G.J., Thomas R.L., McMillan K., 1979 a. Triazine residues in suspended solids (1974-1976) and water (1977) from the mouths of canadian streams flowing into the great lakes. Intern. Assoc. Great Lakes Res., 5, 2, 131-138.
- Frank R. et Sirons G.J., 1979 b. Atrazine : its use in corn production and its loss to stream waters in southern Ontario, 1975-1977. Sci. Total Environ., 12, 223-239.

- Frank R., Braun H.E., Van Hove Holdrinet M., Sirons G.J., Ripley B.D., 1982. Agriculture and water quality in the Canadian Great Lakes Basin : V. Pesticide use in 11 agricultural watersheds and presence in stream water, 1975-1977. J. Environ. Qual., 11, 3, 497-505.
- **Giraud F.**, 1992. Modélisation hydrologique d'une zone humide agricole : application au transport d'azote et de phosphore dans le reseau hydraulique. Cas du marais de Moëze, Charente-Maritime. Thèse de l'université de Rennes, 222 p.
- Glotfelty D.E., Taylor A.W., Isensee A.R., Jersey J., Glenn S., 1984. Atrazine and simazine movement to Wye river estuary. J. Environ. Qual., 13, 1, 115-121.
- Goldberg M.C., DeLong L., Sinclair M., 1973. Extraction and concentration of organic solutes from water. Anal. Chem., 45, 1, 89-93.
- Gomez-Belinchon J.I., Grimalt J.O., Albaiges J., 1988. Intercomparison study of liquidliquid extraction and Amberlite XAD-2 for the analysis of hydrocarbons, polychlorobiphenyls and fatty acids dissolved in seawater. Environ. Sci. Technol., 22, 6, 677-685.
- **Gonzalez J.L.**, 1992. Comportement du Cadmium et du Mercure lors de la diagénèse précoce et flux à l'interface eau-sédiments en zone littorale. Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1, 247 p.
- Gough M., Fothergill J., Hendrie J.D., 1994. A survey of Southern England Coastal Waters for the s-triazine antifouling compound Irgarol 1051. Mar. Poll. Bull., 28, 10, 613-620.
- Grieser M.D., Pietrzyk D.J., 1973. Liquid chromatography on a porous polystyrenedivinylbenzene support. Anal. Chem., 45, 8, 1348-1353.
- Hall L.W., Ziegenfuss M.C., Anderson R.D., Spittler T.D., Leichtweis H.C., 1994. Influence of salinity on atrazine toxicity to a Chesapeake Bay copepod (Eurytemora affinis) and fish (Cyprinodon variegatus). Estuaries, 17, 1B, 181-186.
- Hallberg G.R., 1989. Pesticide pollution of groundwater in the humid United States. Agric., Ecosys., Environ., 26, 299-367.
- Hasset J.P., Anderson M.A., 1979. Association of hydrophobic organic compounds with dissolved organic matter in aquatic systems. Environ. Sci. Technol., 13, 12, 1526-1529.
- Helder W. and Ruardij P., 1982. A one-dimensional mixing and flushing model of the Ems-Dollard estuary : calculation of time-scales at different river discharges. Neth. J. Sea Res., 15, 3-4, 293-312.
- Hennion M.C., Subra P., Rosset R., Lamacq J., Scribe P., Saliot A., 1990. Off-line and on-line preconcentration techniques for the determination of phenylureas in freshwaters. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 42, 15-33.
- Heral M., Prou J., Deslous-Paoli J.M., 1986. Influence des facteurs climatiques sur la production conchylicole du bassin de Marennes-Oléron. Haliotis, 15, 193-207.

- Hermans J.H., Smedes F., Hofstraat J.W., Cofino W.P., 1992. A method for estimation of chlorinated biphenyls in surface waters: influence of sampling method on analytical results. Environ. Sci. Technol., 26, 2028-2035.
- Hollister T.A., Walsh G.E., 1973. Differential responses of marine phytoplankton to herbicides : oxygen evolution. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 9, 5, 291-295.
- Huber W., 1993. Ecotoxicological relevance of atrazine in aquatic systems. Environ. Toxicol. and Chem., 12, 1865-1881.
- Humenik F.J., Smolen M.D., Dressing S.A., 1987. Pollution from nonpoint sources. Environ. Sci. Technol., 21, 8, 737-742.
- IFREMER, 1989. Activités d'IFREMER en Poitou-Charentes: 1984-1988. Bilan de la convention IFREMER / Région Poitou-Charentes, 35 p.
- James H.A., Steel C.P., Wilson I., 1981. Impurities arising from the use of XAD-2 resin for the extraction of organic pollutants in drinking water. J. Chromatogr., 208, 89-95.
- Janda V., Marha K., 1985. Recovery of s-triazines from water and their analysis by gas chromatography with photoionization detection. J. Chromatogr., 329, 186-188.
- Johnson W.E., Fendinger N.J., Plimmer J.R., 1991. Solid-phase extraction of pesticides from water : possible interferences from dissolved organic material. Anal. Chem., 63, 1510-1513.
- Jones T.W., Kemp W.M., Stevenson J.C. and Means J.C., 1982. Degradation of atrazine in estuarine water/sediment systems and soils. J. Environ. Qual., 11, 4, 632-638.
- Jones T.W., Winchell L., 1984. Uptake and photosynthetic inhibition by atrazine and its degradation products on four species of submerged vascular plants. J. Environ. Qual., 13, 2, 243-247.
- Jouanneau J.M., 1982. Matières en suspension et oligo-éléments métalliques dans le système estuarien Girondin: comportement et flux. Thèse de doctorat d'état, Université de Bordeaux, 306 p.
- Jouany J.M., Dabene E., 1994. Classements des substances actives phytosanitaires en vue de la surveillance de la qualité des eaux à l'échelle nationale. Groupe de travail "listes prioritaires" du Comité de Liaison, 48 p.
- Junk G.A., Richard J.J., Grieser M.D., Witiak D., Arguello M.D., Vick R., Svec H.J., Fritz J.S., Calder G.V., 1974. Use of macroreticular resins in the analysis of water for trace organic contaminants. J. Chromatogr., 99, 745-762.
- Junk G.A., Avery M.J., Richard J.J., 1988. Interferences in solid-phase extraction using C18 bonded porous silica cartridges. Anal. Chem., 60, 1347-1350.
- Kaul L.W., Froelich P.N., 1984. Modeling estuarine nutrient geochemistry in a simple system. Geochimica Cosmochimica Acta, 48, 1417-1433.
- Keith L.H. et al., 1983. Principles of environmental analysis. Anal. Chem., 55, 2210-2218.

- Kemp W.M., Boynton W.R., Cunningham J.J., Stevenson J.C., Jones T.W., Means J.C., 1985. Effects of atrazine and linuron on photosynthesis and growth of the Macrophytes, Potamogeton perfoliatusL. and Myriophyllum spicatum L. in an estuarine environment. Mar. Environ. Res., 16, 255-280.
- Kempe S., Pettine M., Cauwet G., 1991. Biogeochemistry of European rivers. Dans "Biogeochemistry of major world rivers", Degens E.T., Kempe S., Richey J.E. Eds, John Wiley & Sons, 169-211.

Khan M.A.Q., 1977. Pesticides in aquatic environments. Plenum Press, 257 p.

- Khan S.U., 1980. Determining the role of humic substances in the fate of pesticides in the environment. J. Environ. Sci. Health, B15(6), 1071-1090.
- Kolpin D.W., Kalkhoff S.J., 1992. *Time of travel and dispersion in a selected reach of Roberts Creek, Clayton County, Iowa*. U.S. Geological Survey, report 91-4145, 16 p.
- Kolpin D.W., Kalkhoff S.J., 1993. Atrazine degradation in a small stream in Iowa. Environ. Sci. Technol., 27, 134-139
- Koskinen W.C., Otto J.M., Jarvis L.J., Dowdy R.H., 1992. Potential interferences in the analysis of atrazine and deethylatrazine in soil and water. J. Environ. Sci. Health, B27(3), 255-268.
- Kratochvil B., Taylor J.K., 1981. Sampling for chemical analysis. Anal. Chem., 53, 8, 924A-938A.
- Kucklick J.R., Bidleman T.F., 1994. Organic contaminants in Winyah Bay, South Carolina I: pesticides and PAHs in subsurface and microlayer waters. Mar. Environ. Res., 37, 63-78.
- Kjerfve B., 1988. Hydrodynamics of estuaries. Estuarine physics. CRC Press, Inc., 163 p.
- Lartiges S., 1994. Analyse et devenir de pesticides organophosphorés et organoazotés dans l'environnement aquatique. Thèse de l'université de Bordeaux I, 193 p.
- Law R.J., Waldock M.J., Allchin C.R., Laslett R.E., Bailey K.J., 1994. Contaminants in seawater around England and Wales : results from monitoring surveys, 1990-1992. Mar. Poll. Bull., 28, 11, 668-675.
- Lee H.B., Chau A.S.Y., 1983. Determination of trifluralin, diallate, triallate, atrazine, barban, diclofop-methyl and benzoylprop-ethyl in natural waters at ppt levels. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 66, 3, 651-658.
- Lee H.B., Stokker Y.D., 1986. Analysis of eleven triazines in natural waters. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 69, 4, 568-571.
- Liska I., Krupcik J., Leclercq P.A., 1989. The use of solid sorbents for direct accumulation of organic compounds from water matrices A review of solid-Phase Extraction techniques. J. High Resol. Chromatogr., 12, 577-590.
- Loder T.C., Reichard R.P., 1981. The dynamics of conservative mixing in estuaries. Estuaries, 4, 1, 64-69.

Long G.L., Winefordner J.D., 1983. Limit of detection. Anal. Chem., 55, 7, 712A-724A.

- Mantoura R.F.C., Martin J.M., Wollast R., 1991. Ocean margin processes in global change. R.F.C. Mantoura, J.M. Martin & R. Wollast (eds), John wiley & sons Ltd, 469 p.
- McDonnell T., Rosenfeld J., Rais-Firouz A., 1993. Solid-phase sample preparation of natural waters with reversed-phase disks. J. of Chromatogr., 629, 41-53.
- McEwen F.L., Stephenson G.R., 1979. The use and significance of pesticides in the environment. John Wiley § Sons, 538 p.
- Marchand M., 1985. Processus géochimiques d'apports et de distribution des polluants organiques dans l'environnement marin. Etude appliquée aux hydrocarbures et hydrocarbures halogénés. Thèse de doctorat d'état, Université Paris 6, 309 p..
- Marchand M., 1989. Les produits phytosanitaires agricoles et la qualité des eaux marines littorales. T.S.M.-L'eau, 511-521.
- Martin J.M., Whitfield M., 1983. The significance of the river input of chemical elements to the ocean. In "Trace metals in sea water", 265-290.
- Martin J.M., Mouchel J.M., Thomas A.J., 1986. Time concepts in hydrodynamic systems with an application to ⁷Be in the Gironde estuary. Mar. Chem., 18, 369-392.
- Martin J.M., Brun-Cottan J.C., 1988. Estuaries, 88-99. In "Pollution of the North Sea. An assessment", Salomons W., Bayne B.L., Duursma E.K., Förstner U, 687 p.
- Martin J.M., Windom H.L., 1991. Present and future roles of ocean margins in regulating marine biogeochemical cycles of trace elements. In "Ocean margin processes in global change", R.F.C. Mantoura, J.M. Martin & R. Wollast (eds), John wiley & sons Ltd, 45-67.
- Maugh T.H., 1978. Chemicals: how many are there ? Science, 199, 162.
- Means J.C., Wijayaratne R., 1982. Role of natural colloids in the transport of hydrophobic pollutants. Science, 215, 968-970.
- Means J.C., Wijayaratne R.D., Boynton W.R., 1983. Fate and transport of selected herbicides in an estuarine environment. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40 (2), 337-345.
- Mégnégneau R., Moisan K., Tronczynski J., 1994. Contribution à l'étude de la contamination des eaux estuariennes et littorales par les produits phytosanitaires utilisés sur les bassins versants de la Garonne et de la Dordogne. Rapport IFREMER / INRA, 55 p.
- Meyer M.T., Mills M.S., Thurman E.M., 1993. Automated solid-phase extraction of herbicides from water for gas chromatographic- mass spectrometric analysis. J. Chromatogr., 629, 55-59.
- Mills M.S., Thurman E.M., 1992. Mixed-mode isolation of triazine metabolites from soil and aquifer sediments using automated solid-phase extraction. Anal. Chem., 64, 1985-1990.

- Mills M.S., Thurman E.M., Pedersen M.J., 1993. Application of mixed-mode, solidphase extraction in environmental and clinical chemistry. Combining hydrogenbonding, cation-exchange and Van der Waals interactions. J. Chromatogr., 629, 11-21.
- Mills M.S., Thurman E.M., 1994 a. Reduction of nonpoint source contamination of surface water and groundwater by starch encapsulation of herbicides. Environ. Sci. Technol., 28, 73-79.
- Mills M.S., Thurman E.M., 1994 b. Preferential dealkylation reactions of s-triazine herbicides in the unsaturated zone. Environ. Sci. Technol., 28, 600-605.
- Morris A.W., Mantoura R.F.C., Bale A.J., Howland R.J.M., 1978. Very low salinity regions of estuaries : important sites for chemical and biological reactions. Nature, 274, 678-680.
- Muir D.C.G., Baker B.E., 1978. The disappearance and movement of three triazine herbicides and several of their degradation products in soil under field conditions. Weed Res., 18, 111-120.
- Munch D.J., Frebis C.P., 1992. Analyte stability studies conducted during the National Pesticide Survey. Environ. Sci. Technol., 26, 921-925.
- Munschy C., 1991. Pesticides et contamination des zones littorales : cas général; étude et recherche des chlorotriazines et de leurs produits de dégradation: cas particulier du delta du Rhône. Rapport de DEA, IFREMER Nantes, 55 p.
- Munschy C., Tronczynski J., Durand G., Barcelo D., 1993. Spatial distribution of chlorotriazine concentrations in the estuarine and coastal Atlantic waters influenced by riverine inputs, Marennes-Oléron, France. Présenté au 4ème "Workshop on chemistry and fate of modern pesticides and related pollutants", IAEAC, Prague, Septembre 1993.
- Newman A., 1993. Raising the risk of pesticides. Environ. Sci. Technol., 27, 9, 1742-1744.
- Noble A., 1993. Partition coefficient (n-octanol-water) for pesticides. J. Chrom., 642, 3-14.
- Officer C.B., Lynch D.R., 1981. Dynamics of mixing in estuaries. Est. Coast. Shelf Sci., 12, 525-533.
- **Onuska F.I.,** 1989. *Techniques and procedures for preparation of aquatic samples for chromatographic analyses.* J. High Resolut. Chromatogr., 12, 4-11.
- O'Sullivan J., et Bouw W.J., 1993. Reduced rates of postemergence herbicides for weed control in sweet corn (Zea mays). Weed Technol., 7, 4, 995-1000.
- Pantone D.J., Young R.A., Buhler D.D., Eberlein C.V., Koskinen W.C., Forcella F., 1992. Water quality impacts associated with pre- and postemergence applications of atrazine in maize. J. Environ. Qual., 21, 567-573.
- Patterson P.L., 1978. Selective responses of a flameless thermionic detector. J. Chromatogr., 167, 381-397.

- Patterson P.L., Howe R.L., 1978. Thermionic Nitrogen-Phosphorus Detection with an alcali-ceramic bead. J. Chromatogr., 16, 275-280.
- Pereira W.E., Rostad C.E., Leiker T.J., 1989. Preliminary assessment of the fate and transport of synthetic organic agrochemicals in the lower mississippi river and its tributaries. U.S. Geological Survey toxic substances hydrology program. Proceedings of the technical meeting, Phoenix, Arizona, Sept. 1988, 453-459.
- Pereira W.E., Rostad C.E., 1990. Occurence, distributions and transport of herbicides and their degradation products in the lower Mississippi river and its tributaries. Environ. Sci. Technol., 24, 1400-1406.
- Pereira W.E., Hostettler F.D., 1993. Nonpoint source contamination of the Mississippi river and its tributaries by herbicides. Environ. Sci. Technol., 27, 1542-1552.
- Philpott M.F., Van der Merve M.J., 1991. Non-linear calibration of a Nitrogen-Phosphorus Detector for the GC determination of amino acids. Chromatographia, 31, 9/10, 500-504.
- Pick F.E., Van Dyk L.P., Botha E., 1992. Atrazine in ground and surface water in maize production areas of the Transvaal, South Africa. Chemosphere, 25, 3, 335-341.
- Pico Y., Louter A.J.H., Vreuls J.J., Brinkman U.A.Th., 1994. On-line trace-level enrichment GC of triazine herbicides, organophosphorus pesticides, and organosulfur compounds from drinking and surface waters. Analyst, 119, 2025-2031.
- Pimentel D., McLaughlin L., Zepp A., Lakitan B., Kraus T., Kleinman P., Vancini F., Roach W.J., Graap E., Keeton W.S., Selig G., 1993. Environmental and economic effects of reducing pesticide use in agriculture. Agric., Ecosys. and Environ., 46, 273-288.
- Plumley F.G., Davis D.E., 1980. The effects of a photosynthesis inhibitor atrazine, on salt marsh edaphic algae, in culture, microecosystems, and in the field. Estuaries, 3, 4, 271-277.
- Raju G.S., Millette J.A., Khan S.U., 1993. Pollution potential of selected pesticides in soils. Chemosphere, 26, 8, 1429-1442.
- Readman J.W., Albanis T.A., Barcelo D., Galassi S., Tronczynski J., Gabrielides G.P., 1993 a. Herbicide contamination of Mediterranean estuarine waters : results from a MED POL pilot survey. Mar. Poll. Bull., 26, 11, 613-619.
- Readman J.W., Kwong L.L.W., Grondin D., Bartocci J., Villeneuve J.P., Mee L.D., 1993 b. Coastal water contamination from a triazine herbicide used in antifouling paints. Environ. Sci. Technol., 27, 1940-1942.
- Reddy K.N., Locke M.A., 1994. Prediction of soil sorption (koc) of herbicides using semiempirical molecular properties. Weed Sci., 42, 453-461.
- Rhode W.A. et al, 1981. Atrazine persistence in soil and transport in surface and subsurface runoff from plots in the coastal plain of the Southern United States. Agro-Ecosystems, 7, 225-238.

- Richards R.P., Kramer J.W., Baker D.B., Krieger K.A., 1987. Pesticides in rainwater in the northeastern United States. Nature, 327, 129-131.
- Rios A., Valcarcel M., 1994. Representativeness of analytical results. Analyst, 119, 109-112.
- Ritter W.F., Scarborough R.W., Chirnside A.E.M., 1994. Contamination of groundwater by triazines, metolachlor and alachlor. J. Contam. Hydrol., 15, 73-92.
- Saliot A., 1975. Acides gras, stérols et hydrocarbures en milieu marin : inventaire, applications géochimiques et biologiques. Thèse de doctorat d'état, Université Paris 6, 167 p.
- Scharf J., Wiesiollek R., Bäcchmann K., 1992. Pesticides in the atmosphere. Fres. J. Anal. Chem., 342, 813-816.
- Schattenberg H.J. et Hsu J.P., 1992. Pesticide residue survey of produce from 1989 to 1991. J. of AOAC Intern., 75, 5, 925-933.
- Schuette S.A., Smith R.G., Holden L.R., Graham J.A., 1990. Solid-phase extraction of herbicides from well water for determination by gas chromatography-mass spectrometry. Anal. Chim. Acta, 236, 141-144.
- Sempéré R., 1991. Rôle des colloïdes organiques dans les cycles biogéochimiques. Contribution au cycle du "nouveau carbone". Mise au point d'une technique d'ultrafiltration tangentielle sur membrane minérale. Thèse de l'université de Perpignan, 177 p.
- Sempéré R., Cauwet G., Randon J., 1994. Ultrafiltration of seawater with a zirconium and aluminium oxide tubular membrane : application to the study of colloidal organic carbon distribution in an estuarine bottom nepheloid layer. Mar. Chem., 46, 49-60.

Sherma J., 1993. Pesticides. Anal. Chem., 65, 40R-54R.

- Sigg L., Stumm W., Behra P., 1992. Chimie des milieux aquatiques. Masson, Paris, 391 p.
- Sigleo A.C., Helz G.R., 1981. Composition of estuarine colloidal material : major and trace elements. Geochim. Cosmochim. Acta, Vol. 45, 2501-2509.
- Sigleo A.C., Hoering T.C., Helz G.R., 1982. Composition of estuarine colloidal material : organic components. Geochim. Cosmochim. Acta, Vol. 46, 1619-1626.
- Sigleo A.C., Means J.C., 1990. Organic and inorganic components in estuarine colloids : implications for sorption and transport of pollutants. Reviews of Environ. Contam. Toxicol., vol. 112, 123-147.
- Sigua G.C., Isensee A.R., Sadeghi A.M., 1993. Influence of rainfall intensity and crop residue on leaching of atrazine through intact no-till soil cores. Soil Sci., 156, 4, 225-232.
- Slobodnik J., Brouwer E.R., Geerdink R.B., Mulder W.H., Lingeman H., Brinkman U.A.Th., 1992. Fully automated on-line liquid chromatographic separation system for polar pollutants in various types of water. Anal. Chim. Acta, 268, 55-65.

- Smith A.E., Muir D.C.G., Grover R., 1982. The triazine herbicides. Dans "Analysis of pesticides in water", Vol. III, Chau A.S., Afghan B.K., CRC Press, 213-239.
- Somasundaram L., Coats J.R., 1991. *Pesticide transformation products in the environment*. Dans "Pesticide transformation products. Fate and significance in the environment", ACS Symposium Series 459, Eds Somasundaram L. and Coats J.R., p 2-9.
- Squillace P.J., Thurman E.M., 1992. Herbicide transport in rivers : importance of hydrology and geochemistry in nonpoint-source contamination. Environ. Sci. Technol., 26, 538-545.
- Squillace P.J., Thurman E.M., Furlong E.T., 1993. Groundwater as a nonpoint source of atrazine and deethylatrazine in a river during base flow conditions. Water Resources Research, 29, 6, 1719-1729.
- Steinheimer T.R. and Brooks M.G., 1984. Development and evaluation of a gas chromatographic method for the determination of triazine herbicides in natural water samples. Intern. J. Environ. Anal. Chem., 17, 97-111.
- Sterling T.M., 1994. Mechanisms of herbicide absorption across plant membranes and accumulation in plant cells. Weed Sci., 42, 263-276.
- Stevenson J.C., Jones T.W., Kemp W.M., Boynton W.R., Means J.C., 1982. An overview of atrazine dynamics in estuarine systems. Proc. of the Workshop on Agrichemicals and Estuarine Productivity, Duke University Marine Laboratory, Beaufort, NC, 18-19 Sept. 1980. U.S. Dept of Commerce, National Technical Information Service, 71-94.
- Strachan W.M.J., Glooschenko W.H., Maguire R.J., 1982. Environmental impact and significance of pesticides. Dans "Analysis of pesticides in water", Vol. I, Chau A.S., Afghan B.K., CRC Press, 1-23.
- Taylor J.K., 1987. *Quality assurance of chemical measurements*. Lewis Publishers, INC., 328 p.
- Thurman E.M., Malcolm R.L., Aiken G.R., 1978. Prediction of capacity factors for aqueous organic solutes adsorbed on a porous acrylic resin. Anal. Chem., 50, 6, 775-779.
- Thurman E.M., Meyer M., Pomes M., Perry C.A., Schwab A.P., 1990. Enzyme-linked immunosorbent assay compared with GC/MS fot the determination of triazine herbicides in water. Anal. Chem., 62, 2043-2048.
- Thurman E.M., Goolsby D.A., Meyer M.T., Mills M.S., Pomes M.L., Kolpin D.W., 1992. A reconnaissance study of herbicides and their metabolites in surface water of the Midwestern United States using immunoassay and GC/MS. Environ. Sci. Technol., 26, 2440-2447.
- Triplett G.B., Conner B.J., Edwards W.M., 1978. Transport of atrazine and simazine in runoff from conventional and no-tillage corn. J. Environ. Qual., 7, 1, 77-84.
- **Tronczynski J.**, 1990. *Programme de recherche sur les produits phytosanitaires en zones littorales et estuariennes.* IFREMER, DRO-90-05-MR, 39 p.

- Tronczynski J., 1993. An overview of atrazine in the estuarine environment. ICES/MCWG, 12 p.
- Tronczynski J., Munschy C., Durand G. et Barcelo D., 1993 a. Monitoring of tracelevels of herbicides and their degradation products in the river Rhône, France, by gas chromatography-mass spectrometry. Sci. Total Environ., 132, 327-337.
- Tronczynski J., Munschy C. et Pont D., 1993 b. Annual survey of chlorotriazines concentrations in the Mediterrenean and Atlantic coastal areas, France. Présenté au 4ème "Workshop on chemistry and fate of modern pesticides and related pollutants", IAEAC, Prague, Septembre 1993.
- Tronczynski J., Munschy C., Moisan K., 1994. *Transport and fate of triazine herbicides in the French estuaries.* Book of Abstracts, ACS Publication, San Diego, CA.
- Tronczynski J., Thouvenain B., Moisan K., Munschy C., Nello P., Sicre M.A., Benedetto-Fernandez M., Saliot A., 1995. *Etude des contaminants organiques dans l'estuaire de la Seine*. Premier rapport scientifique, IFREMER, UPMC, 30 p.
- Trotter D.M., Baril A., Wong M.P., Kent R.A., 1990. Canadian water quality guidelines for atrazine. Scientific Series 168, 106 p.
- Wauchope R.D., 1978. The pesticide content of surface water draining from agricultural fields. A review. J. Environ. Qual., 7, 4, 459-472.
- Winkelmann D.A., Klaine S.J., 1991. Atrazine metabolite behavior in soil-core microcosms. Dans "Pesticide transformation products", Somasundaram L., Coats J.R., ACS Symposium Series 459, 75-92.
- Wittman C., Hock B., 1993. Application and performance characteristics of a novel ELISA for the quantitative analysis of the atrazine metabolite deethylatrazine. J. of Agric. and Food Chem., 41, 1795-1799.
- Wollast R., Peters J.J., 1983. *Transfer of materials in estuarine zones*. Cooperative Research n° 118, "Review of water quality and Transport Materials in Coastal and Estuarine Waters". J.B. Pearce ed., ICES.
- Wu T.L., Lambert L., Hastings D., Banning D., 1980. Enrichment of the agricultural herbicide atrazine in the microsurface water of an estuary. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 24, 411-414.
- Wu T.L., 1981. Atrazine residues in estuarine water and the aerial deposition of atrazine into Rhode river, Maryland. Water, Air and Soil Poll., 15, 173-184.
- Wu T.L., Correll D.L., Remenapp H.E.H., 1983. Herbicide runoff from experimental watersheds. J. Environ. Qual., 12, 3, 330-336.
- Zar J.H., 1984. Biostatistical analysis. Prentice-Hall INC., Second Edition, 718 p.
- Zimmerman J.T.F., Rommets J.W., 1974. Natural fluorescence as a tracer in the Dutch Wadden Sea and the adjacent North Sea. Neth. J. Sea Res., 8 (2-3), 117-125.
- Zutic V., Legovic T., 1987. A film of organic matter at the fresh-water/sea-water interface of an estuary. Nature, 328, 612-614.



ANNEXE 1

ETAT DES CONNAISSANCES

- Liste des 39 pesticides de la directive 76/464/EEC concernant la pollution par des substances dangereuses déchargées dans l'environnement aquatique (Barcelo, 1993).
- Liste nationale des 30 sustances actives prioritaires établie par le Comité de liaison eau-produits phytosanitaires des ministères de l'agriculture, de l'environnement et de la santé (20 mai 1994).
- Structure moléculaire de quelques herbicides.

Aldrin	D'- 1.1	
Alum	Disulphoton	Monolinuron
Atrazine	Endosulphan	Omethoate
Azinphos-ethyl	Endrin	Oxydemeton-methyl
Azinphos-methyl	Fenitrothion	Parathion-ethyl
Chlordane	Fenthion	Parathion-methyl
Coumaphos	Heptachlor	Phoxim
2,4-D	Hexachlorobenzene	Propanil
DDT	Linuron	Pyrazon
Demeton	Malathion	Simazine
Dichlorprop	MCPA	2.4.5-T
Dichlorvos	Mecoprop	Triazophos
Dieldrin	Metamidophos	Trichlorfon
Dimethoate	Mevinphos	Trifluralin

Liste des 39 pesticides de la directive 76/464/EEC concernant la pollution par des substances dangereuses déchargées dans l'environnement aquatique (Barcelo, 1993).

	alachlore	captane	
atrazine	aminotriazole	carbendazime	
aldicarbe	cvanazine	chlortoluron	diquat
dinoterbe	ioxynil	cvproconazole	fenpropimorphe
diuron	isoproturon	fluroxvpvr	flusilazole
endosulfan	linuron	folpel	triallate
lindane	O-déméton	méthomvl	chlorpyriphos-éthyl
trifluraline	simazine	pendiméthaline	
	terbuthylazine	tridémorphe	

Liste nationale des 30 sustances actives prioritaires établie par le Comité de liaison eau-produits phytosanitaires des ministères de l'agriculture, de l'environnement et de la santé (20 mai 1994).

Structure moléculaire de quelques herbicides

La première triazine (1955)

Ī



CHLORAZINE



SIMAZINE (201.7)









Chloro-triazines













4

Atrazine et ses principaux produits de dégradation



TEBUTAM (233.4)

Amide

Annexe 1



I

I
ANNEXE 2

L'ANALYSE DE COMPOSES HERBICIDES A L'ETAT DE TRACES DANS LES ECHANTILLONS NATURELS

- Estuaire de la Charente : Résultats des tests de comparaison de Wilcoxon pour les résultats obtenus par extractions liquide-liquide et liquide-solide sur disques Empore.
- Estuaire de la Gironde : Résultats des tests de comparaison de Wilcoxon (test de signe) pour les résultats obtenus par extractions liquide-liquide et liquide-solide sur résines XAD-2, pour la simazine, l'atrazine, la DEA, la terbuthylazine et le metolachlor.
- Tableau A2.1 : Caractéristiques du détecteur NPD en CPG sur colonne non polaire DB5.
- Figures A2.1 à A2.6 : Domaine de linéarité du détecteur NPD pour quelques composés appartenant à différentes classes de pesticides.

Sample 1: EMP.simll SIMAZINE Sample 2: EMP.simls Test: Signs Number of positive differences = 8 Number of negative differences = 0 Expected number = 4Large sample test statistic Z = 2.47487Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.0133283NOTE: 8 total pairs. 0 tied pairs ignored. Sample 1: EMP.atrll ATRAZINE Sample 2: EMP.atrls Test: Signs Number of positive differences = 8 Number of negative differences = 0 Expected number = 4Large sample test statistic Z = 2.47487Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.0133283NOTE: 8 total pairs. 0 tied pairs ignored. Sample 1: EMP.deall DEA Sample 2: EMP.deals Test: Signs Number of positive differences = 7 Number of negative differences = 0Expected number = 3.5Large sample test statistic Z = 2.26779Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.0233421NOTE: 7 total pairs. 0 tied pairs ignored.

Estuaire de la Charente : Résultats des tests de comparaison de Wilcoxon (test de signe) pour les résultats obtenus par extractions liquide-liquide et liquide-solide sur disques Empore, pour la simazine, l'atrazine et la DEA. On rejette l'hypothèse Ho de non-différence lorsque la probabilité est inférieure à 0.05 (Zar, 1984).

_____ Sample 1: XAD.simll SIMAZINE Sample 2: XAD.simxad Test: Signs Number of positive differences = 10 Number of negative differences = 4 Expected number = 7Large sample test statistic Z = 1.33631 Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.181449 NOTE: 15 total pairs. 1 tied pairs ignored. -_____ Sample 1: XAD.atrll ATRAZINE Sample 2: XAD.atrxad Test: Signs Number of positive differences = 9 Number of negative differences = 5 Expected number = 7Large sample test statistic Z = 0.801784Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.422676 NOTE: 15 total pairs. 1 tied pairs ignored. Sample 1: XAD.deall DEA Sample 2: XAD.deaxad Test: Signs Number of positive differences = 2 Number of negative differences = 13 Expected number = 7.5Large sample test statistic Z = 2.58199 Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.00982331NOTE: 15 total pairs. 0 tied pairs ignored.

Estuaire de la Gironde : Résultats des tests de comparaison de Wilcoxon (test de signe) pour les résultats obtenus par extractions liquide-liquide et liquide-solide sur résines XAD-2, pour la simazine, l'atrazine et la DEA. On rejette l'hypothèse Ho de non-différence lorsque la probabilité est inférieure à 0.05 (Zar, 1984).

Sample 1: 70 103 104 71 54 52 48 43 TERBUTHYLAZINE Sample 2: 91 100 98 74 62 54 47 42 Test: Signs Number of positive differences = 4 Number of negative differences = 4 Expected number = 4Large sample test statistic Z = -0.353553Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.72367 NOTE: 8 total pairs. 0 tied pairs ignored. _____ _____ Sample 1: 90 110 145 115 91 88 58 61 50 METOLACHLOR Sample 2: 92 135 149 125 104 82 62 56 49 Test: Signs Number of positive differences = 3 Number of negative differences = 6 Expected number = 4.5Large sample test statistic Z = 0.666667 Two-tailed probability of equaling or exceeding Z = 0.504983 NOTE: 9 total pairs. 0 tied pairs ignored.

Estuaire de la Gironde : Résultats des tests de comparaison de Wilcoxon (test de signe) pour les résultats obtenus par extractions liquide-liquide et liquide-solide sur résines XAD-2, pour la terbuthylazine et le metolachlor. On rejette l'hypothèse Ho de non-différence lorsque la probabilité est inférieure à 0.05 (Zar, 1984).

COMPOSES	Tr	C ⁽¹⁾	R ⁽²⁾	Bl ⁽³⁾	S ⁽⁴⁾	S/C (x10 ⁷)	B (5)	S/B	LDI (6)
	(min.)	(pg)	(V)	(V)	(V)	(V.g ⁻¹)	(V)		(pg)
DIA	11.8	409	0.0537	0.0292	0.0245	6	0.00028	88	9
DEA	12	283	0.0457	0.0292	0.0165	5.8	0.00028	59	10
Tebutam	12.6	312	0.0373	0.0292	0.0081	2.6	0.00028	29	22
Simazine	13.5	292	0.0562	0.0298	0.0264	9	0.00028	94	6
Atrazine	13.8	348	0.0635	0.0298	0.0337	9.7	0.00028	120	6
Terbuthylazine	14.4	311	0.0574	0.0298	0.0276	8.9	0.00028	98	6
Alachlor	17.4	523	0.0392	0.0306	0.0086	1.6	0.00028	31	34
Prometryne	17.7	272	0.0474	0.0306	0.0168	6.2	0.00028	60	9
Metolachlor	19.2	575	0.0366	0.0306	0.006	1	0.00028	21	55
Pretilachlor	24.6	657	0.0391	0.0317	0.0074	1.1	0.00028	27	49

Tableau A2.1 : Caractéristiques du détecteur NPD en CPG sur colonne non polaire DB5.

Courant appliqué à la bille: 3.22A.

(1): C= quantité injectée dans un microlitre.

(2): R = réponse du détecteur au composé.

(3): Bl= Ligne de base. Les valeurs correspondent à des moyennes effectuées sur les 2 minutes précédant la réponse R due au composé.

(4): S = signal = R - Bl

(5): B= Bruit

(6): LDI= limite de détection instrumentale (deux fois le bruit de fond B)



Figures A2.1 à A2.2 : Domaine de linéarité du détecteur NPD pour quelques composés appartenant à différentes classes de pesticides. En abscisse : logarithme de la quantité injectée en pg (log C) et en ordonnée : rapport de la réponse du détecteur (R) à la quantité C.



Figures A2.3 à A2.4 : Domaine de linéarité du détecteur NPD pour quelques composés appartenant à différentes classes de pesticides. En abscisse : logarithme de la quantité injectée en pg (log C) et en ordonnée : rapport de la réponse du détecteur (R) à la quantité C.



Figures A2.5 à A2.6 : Domaine de linéarité du détecteur NPD pour quelques composés appartenant à différentes classes de pesticides. En abscisse : logarithme de la quantité injectée en pg (log C) et en ordonnée : rapport de la réponse du détecteur (R) à la quantité C.

ANNEXE 3

LES CANAUX DES MARAIS DE CHARENTE MARITIME

- Tableau A3.1 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux du canal de Marennes de mai 1992 à septembre 1993.
- Tableau A3.2 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux du canal de Charras de mai 1992 à novembre 1993.
- Tableau A3.3 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux du canal du Grand Garçon (Brouage) de mai 1992 à novembre 1993.
- Spectres de masse des composés identifiés dans une spécialité commerciale d'atrazine.

MARENNES	S	T (°C)	O2 (ml.l ⁻¹)	O2 (% sat.)	pН	COD (µmol.1 ⁻¹)	COP (mg.l ⁻¹)	MES (mg.l ⁻¹)	NTU
18-Mai	1.2	24.7	8.9	156	8.79	616.7	2.7	5.3	
16-Jun	0.8	22.1	6.6	108	8.26	450	2.1	6.8	2
15-Jul	0.8	22.8	4.7	79	8.3	400	0.7	4.7	1.5
21-Sep	3.8	19.2	6.1	96	8.22	462.5	1.2	3.8	1.5
20-Oct	1.9	11.1	12.2	160	8.7	325	1.7	3.8	2.7
25-Nov	0.7	12.8	3.1	42	7.5	1666.7	0.8	10.3	19
21-Déc	0.7	9.2	6.0	74	7.7	391.7	0.3	4.0	2
26-Jan	2.0	9.2	8.3	104	7.6	325	1.8	7.0	3.4
22-Fév	1.8	6.7	5.3	63	8.3	466.7	1.8	3.5	1.4
22-Mar	1.6	13.5	7.9	110	8.1	508.3	1.1	5.9	2.8
26-Avr	1.3	14	8.9	125	8.39	445.8	3.4	11.5	5.4
03-Mai	1.0	15.6	5.2	75	8.5	470.8	4.9	10.6	5
10-Mai	0.7	17	9.6	142	8.42	575	5.9	11.5	6.5
17-Mai	0.2	18.8	6.4	99	8.1	479.2	3.7	9.2	4
24-Mai	0.5	20	5.7	90	8.08	441.7	2.6	6.3	3.5
21-Jun	0.6	22.5	5.3	88	8.02	320.8	1.4	13.7	2.5
19-Jul	0.4	23	4.6	76	8.05	385	1.1	8.5	3.9
23-Aoû	1.5	23	4.8	81	7.7	357.5	0.8	5.3	1.8
15-Sep	2.1	16.2	5.1	75	7.99	266.7	0.4	2.4	1.7

CANAL DE MARENNES

Tableau A3.1 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux du canal de Marennes de mai1992 à septembre 1993.

	S	T (°C)	O ₂ (ml.l ⁻¹)	O ₂ (% sat.)	pН	COD (µmol.1 ⁻¹)	COP (mg.l ⁻¹)	MES (mg.l ⁻¹)	NTU
18-Mai	0.3	23.2	7.4	124	8.31	313	1.6	8.5	
16-Jun	0.1	22	6.1	99	8.04	417	2.4	12	5.6
15-Jul	1.3	22	7	114	8.68	395	0.7	2.4	1.7
21-Sep	1	18.8	6.8	104	8.22	393	1.5	5.5	3.3
20-Oct	0	10.3	4.1	52	7.3	421	0.4	3.5	2.6
25-Nov	0	11.6	4.8	63	7.7	594	2.5	69.6	58
21-Déc	0.2	9.9	5.6	71	7.8	621	2.6	79.4	30
26-Jan	0.2	10.9	6.1	79	8.3	677	0.7	16.8	11
22-Fév	0.2	7.7	6.9	83	7.88	213	0.5	7.4	4.4
22-Mar	0.1	12.2	11.1	147	7.99	337	2.7	14.9	6.4
26-Avr	0	13	7.5	102	7.81	373	2.3	13.1	7.3
03-Mai	0	14.4	7.4	103	7.69	677	2	12.3	6.6
10-Mai	0.8	17.1	11.6	172	8.35	948	4.4	11.9	5.9
17-Mai	0.3	17	10.3	152	8.09	365	2.2	12.8	5
24-Mai	0.4	17.3	7.4	109	7.88	316	2.7	14.4	6.2
21-Jun	0.7	20	4.2	67	7.99	890	1.7	14.4	6.3
19-Jul	1.1	23.2	4.5	76	8.17	583	2.1	33.6	20
23-Aoû	0.8	24	4	68	7.44	344	1.	9.3	6
15-Sep	1.7	17.2	4.2	62	7.85	383	1	10.6	0.7
30-Nov	0.5	5.1	12.5	140	8.12	306			

CANAL DE CHARRAS

Tableau A3.2 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux du canal de Charras de mai 1992 à novembre 1993.

BROUAGE	S	T (°C)	O2 (ml.l ⁻¹)	O2 (% sat.)	pН	COD (µmol.1 ⁻¹)	COP (mg.l ⁻¹)	MES (mg.l ⁻¹)	NTU
18-Mai	4.2	24.9	7.64	135	8.81	1525	13.6	51.6	
16-Jun	1.5	22.4	4.57	76	8.46		2.8	39.1	25
15-Jul	1.8	22	5.55	92	8.74	683	2.3	30	2.1
21-Sep	6.5	18.6	4.62	74	8.23	825	1.7	18	12
20-Oct	8.2	10.5	6.43	88	8.41	1150	2.8	17.4	9.4
25-Nov	2.7	11.8	4.16	56	7.67	1392	1.9	50.2	53
21-Déc	3.5	8.1	4.55	56	7.9	1175	3	134.9	78
26-Jan	3.4	8.5	7.67	97	8.7	1258	4.1	20.4	12
22-Fév	3.8	6.3	7.48	88	8.65	1325	16.4	44.2	16
22-Mar	7.1	13.2	7.6	107	8.39	942	2.9	28.9	11
26-Avr	1.3	12.6	4.64	64	8.45	900	10.4	26.3	12
03-Mai	5.2	14.6	7.6	110	8.22	1400	9	34.3	16
10-Mai	5.3	17.2	7.25	110	8.38	1433	11.9	52.6	17
17-Mai	4.7	17.8	6.78	105	8.46	1317	10.4	49.9	25
24-Mai	5.4	18.6	8.14	130	8.45	1308	8.8	35.8	23
21-Jun	3.6	22.5	6.91	118	8.76	1233	14.1	85.6	46
19-Jul	4.9	20.9	3.32	55	8.68	1408	8.5	51.6	35
23-Aoû	2.6	22	5.31	88	8.37	417	5.8	49.7	29
15-Sep	4.1	15.9	5	74	8.18	408	3.1	20.6	13
30-Nov	7.2	4	14.9	171	8.55	1423	4.7	23.4	

CANAL DU GRAND GARCON - BROUAGE

Tableau A3.3 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux du canal du Grand Garçon (Brouage) de mai 1992 à novembre 1993.

SPECIALITES COMMERCIALES

Deux spécialités commerciales (Sipcam-Phyteurop) d'herbicides ont été analysées en GC/NPD et GC/MS : l'atrazine ("Atraphyt") et la simazine ("Simaphyt"). Ces produits sont présentés en solution aqueuse à 500 g.l⁻¹, elles contiennent des agents solubilisateurs. Elles ont été diluées dans le méthanol en tenant compte de la solubilité des composés dans ce solvant, puis dans l'iso-octane. La présence d'une autre chlorotriazine, la propazine, est identifiée en GC/MS dans la solution d'atrazine. La solution de simazine est exempte de cette contamination. Les produits de dégradation ne sont pas présents dans les solutions. Globalement, les solutions injectées apparaissent comme étant très "propres", du moins en détection NPD et MS. Les chromatogrammes et les spectres de masse des composés obtenus en CPG/SM sont fournis cidessous pour la solution commerciale d'atrazine.





ANNEXE 4.1

L'estuaire de la Charente

et le bassin de Marennes-Oléron

Site	te Salinité Simazine (ng.l ⁻¹)		Atrazine (ng.l ⁻¹)	DEA (ng.l ⁻¹)	DAR
La Lay	28	125	75	25	0.3
Sèvre	2.9	125	141	38	0.3
Sèvre (sortie)	8	111	131	34	0.3
Aiguillon	15.7	85	110	25	0.2
Aix	34.2	6	6	nq	
Charente (sortie)	28.8	32*	22*		
Charente	11.6	48*	40*		
Charente / Charras	2.9	109*	111*		
Charente / Taillebourg	0.4	124*	135*		
Brouage		287	251	111	0.4
Brouage (sortie)		91	171	121	0.7
Chenal de Brouage	22.1	94	146	29	0.2
Chenal de Merignac	29.4	32	31	11	0.4
Seudre (sortie)	31.8	15	23	7	0.3
Maumusson	31.6	18	20	7	0.4

Tableau A4.1.1 : Concentrations $(ng.l^{-1})$ en simazine, atrazine et DEA, et valeurs du rapport

DEA / atrazine (DAR) dans les eaux du bassin de Marennes-Oléron en Mai 1991. * : résultats obtenus par le CID-CSIC, Barcelone (Durand et Barcelo, communication personnelle).

nq = non quantifiable

Marée	Salinité	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)
BM	29.5	36	32
HM - 3h	33.5	11	13
HM	34.2	8	10
HM + 3h	34.2	7	9
BM			
BM + 5h	33.8	10	12

Tableau A4.1.2 : Campagne "GAEL 1", 30 avril 1991.

Variation des concentrations (ng.l⁻¹) en simazine et atrazine en fonction de la marée (coefficient 84) au niveau de la rade de l'île d'Aix.

Point	Marée	Salinité	Simazine (ng.l ⁻¹)	Atrazine (ng.l ⁻¹)
PF1	BM	30.7	9	18
PF2	HM - 3h	33	5	12
PF3	HM	33.2	5	13
PF4	HM + 3h	33.3	14	16
PF5	BM	30.7	16	19
PF6	BM + 3h	33	14	15

Tableau A4.1.3 : Campagne "GAEL 2", 19-20 février 1992.

Variation des concentrations $(ng.l^{-1})$ en simazine et atrazine en fonction de la marée (coefficient 113) au niveau de la rade de l'île d'Aix. Les références PF1-->6 correspondent à la figure 4.1.3.

POINT	Salinité	Т	рH	COD	MES	COP	
	Summe	(°C)	P**	$(\mu mol.l^{-1})$	(mg.l ⁻¹)	$(mg.l^{-1})$	
7	23.7	6.5	8.15	146	43.9	0.8	
6	20.6	6.4	8.3	168	107.5	2.1	
5	14.4	6.5	8	192	183.7	3.4	
Charras	8.2	6.9	8.15	294	44.6	1.2	
4	4.8	6.7	7.9	224	282.4	4.8	
3	1.6	7	7.89	307	217.6	3.5	
2	1.3	7	8.18	197	270.8	4.7	
1	0.7	7	8.12	216	354.9	6.1	
Taillebourg	0.3	7		250	13.8	2.6	

Tableau A4.1.4 : Caractéristiques physico-chimiques des prélèvements effectués dans l'estuaire de la Charente en février 1992 (Campagne "GAEL 2").



Figure A4.1.1 : Estuaire de la Charente, Février 1992. Variations du COD (µmol.l-1) en fonction de la salinité.

- +



Figure A4.1.2 : Estuaire de la Charente, Février 1992. Variations des MES $(mg.l^{-1})$ et du COP $(mg.l^{-1})$ en fonction de la salinité.

ANNEXE 4.2

L'ESTUAIRE DE LA GIRONDE



Figure A4.2.1 : Débits moyens mensuels enregistrés à Pessac (Dordogne) et La Réole (Garonne) pour l'année 1992. En traits pointillés : (a) : Débit moyen annuel de la Garonne





Figure A4.2.2 : Débits journaliers enregistrés à Pessac (Dordogne en trait plein) et La Réole (Garonne en pointillés) en février 1992. Les prélèvements ont été effectués en Gironde les 16 et 17 février.







Figure A4.2.4 : Débits journaliers enregistrés à Pessac (Dordogne en trait plein) et La Réole (Garonne en pointillés) en juin 1993. Les prélèvements ont été effectués sur l'estuaire de la Gironde du 3 au 7 juin.

	Moyenne annuelle (m ³ .s ⁻¹)
Garonne	800
Dordogne	394
Isle	33
Dronne	18

Tableau A4.2.1: Débits moyens annuels de la Garonne, la Dordogne, l'Isle et la Dronne pour l'année 1992.

	Moyenne annuelle (m ³ .s ⁻¹)
Garonne	572
Dordogne	329
Isle	42
Dronne	21

Tableau A4.2.2: Débits moyens annuels de la Garonne, la Dordogne, l'Isle et la Dronne pour l'année 1993.

Annexe	4.	2
--------	----	---

	pK (km)	Salinité	T (°C)	pН	COD (µmol.l ⁻¹)	MES (mg.l ⁻¹)	COP (%)	COP (mg.l ⁻¹)
0	20	0.2	8	7.8	204	390	1.53	6
1	30	1.1	7	7.59	207	864	1.28	11.1
2	40	4.8	7	7.74	232	469	1.49	7
3	50	7.0	7	7.82	210	370	1.46	5.4
4	90	19.5	6	7.93	187	309	1.67	5.2
5	90	21.4	7	8.07	167	148	1.45	2.1
6	90	28.8	8	8.12	130	68	1.7	1.2
7	110	30.4	8	8.13		92	1.6	1.5

Tableau A4.2.3 : Caractéristiques physico-chimiques des prélèvements effectués dans l'estuaire de la Gironde en février 1992. Origine des points kilométriques (pK) à Bordeaux.



Figure A4.2.5 : Estuaire de la Gironde, Février 1992. Variations de la salinité, de la température (°C) et du pH en fonction du pK (origine à Bordeaux).



Figure A4.2.6 : Estuaire de la Gironde, Février 1992. Variations des MES (mg.l⁻¹) et du COP (mg.l⁻¹) le long de l'estuaire. pK en km, origine Bordeaux.



Figure A4.2.7 : Estuaire de la Gironde, Février 1992. Variations du COD (µmol.l⁻¹) en fonction de la salinité.



1

Figure A4.2.8 : Estuaire de la Gironde, Février 1992. Variations des MES (mg. l^{-1}) et du COP (mg. l^{-1}) en fonction de la salinité.



Figure A4.2.9 : Estuaire de la Gironde, février 1992. Variation des concentrations en simazine en fonction de la salinité. Droite de dilution conservative en trait plein. Droite de régression (n=8) en trait pointillé.

	pK (km)	Salinité	T (°C)	pН	O2 (ml.l ⁻¹)	COD (µmol.1 ⁻¹)	MES (mg.l ⁻¹)	COP %	COP (mg.l ⁻¹)
plg8	20	0.10	20	7.76	7.3	171	211.6	1.6	3.4
plg11	25	0.29	20	7.86	7.4	205	1463	1.5	22.2
plg5	20	0.44	19	7.82	7.8	194	355.9	1.2	4.4
plg6	29	0.98	19	7.81	7.8	190	273.6	1.1	3
plg7	40	2.88	19	7.82	8.2	207	154.1	1.1	1.7
plg9	51	4.04	19	7.9	7.9	239	437.6	1.4	6.3
plg12	75	8.02	21	7.82	7.7	159	255	1.5	3.9
plg13	75	11.67	21	7.9	6.2	167	349.1	1.5	5.3
plg14	75	15.35	22	7.94	6.5	163	195.4	1.9	3.6
plg15	75	15.7				207	57.3	1.6	0.9
plg4	85	16.6	19	7.93	9.8	186	87.5	1.5	1.3
plg16	75	17.38	20	7.96	6.7	154	121.4	1.6	2
plg17	75	19.21	20	9	8	157	207.4	1.4	2.9
plg3	102	24.4	18	8.09	9.5	145	80.8	1.8	1.4
plg18	82	25.48	20	6.8	8.07	148	50.6	1.8	0.9
plg2	119	29.48	17	8.15	8.9	130	35.7	2.23	0.8
plg19	119	31.97	18	8.11	6.6	128	16.9	3.6	0.6
plg1	133	34.02	17	8.19	11	114	14.9	5.76	0.8
plg21	173	34.52	23	8.27	7.5	134	4.4	17.88	0.8

Tableau A4.2.4 : Caractéristiques physico-chimiques des prélèvements effectués dans l'estuaire de la Gironde en juin 1993. Origine des points kilométriques (pK) à Bordeaux.



Figure A4.2.10 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variations de la salinité, de la température (°C) et du pH en fonction du pK (origine à Bordeaux).



Figure A4.2.11 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variations des MES (mg.l⁻¹) et du COP (mg.l⁻¹) en fonction du pK (origine à Bordeaux).



Figure A4.2.12 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variations du COP (mg.l⁻¹) en fonction de la salinité. Le point à COP = 22.2 mg.l⁻¹ (S = 0.29) a été enlevé.



Figure A4.2.13 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. Variations des MES (mg.l⁻¹) en fonction de la salinité. Le point à MES = 1463 mg.l⁻¹ (S = 0.29) a été enlevé.

Annexe 4.2



Figures A4.2.14 : Estuaire de la Gironde, Juin 1993. Variations des concentrations en simazine en fonction de la salinité.



Figure A4.2.15 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. En trait pointillé: droite de régression linéaire de coefficient r² significatif à 0.1%.



Figure A4.2.16 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. En trait continu: droite de dilution conservative théorique. Les numéros correspondent aux points de prélèvements de la figure 4.2.2.



Figures A4.2.17 : Estuaire de la Gironde, Juin 1993. Variations des concentrations en DEA en fonction de la salinité.



Figure A4.2.18 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. En trait pointillé: droite de régression linéaire de coefficient r² significatif à 0.1%.



Figure A4.2.19 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. En trait continu: droite de dilution conservative théorique. Les numéros correspondent aux points de prélèvements de la figure 4.2.2.

Annexe 4.2



Figures A4.2.20 : Estuaire de la Gironde, Juin 1993. Variations des concentrations en terbuthylazine en fonction de la salinité.



Figure A4.2.21 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. En trait pointillé: droite de régression linéaire de coefficient r² significatif à 0.1%.



Figures A4.2.22 : Estuaire de la Gironde, Juin 1993. Variations des concentrations en metolachlor en fonction de la salinité.



Figure A4.2.23 : Estuaire de la Gironde, juin 1993. En trait pointillé: droite de régression linéaire de coefficient r² significatif à 0.1%.
ANNEXE 4.3

LE DELTA DU RHONE

Datę	Débit		
14/07	2253		
15/07	1949		
16/07	1752		
17/07	1601		
18/07	1386		
19/07	1248		
20/07	1188		
21/07	1312		
22/07	1480		
23/07	1553		
24/07	1305		
25/07	1196		
26/07	1134		
27/07	995		
28/07	1161		
29/07	996		

Tableau A4.3.1 : Débits journaliers $(m^3.s^{-1})$ du Rhône enregistrés à Tarascon en juillet 1992.

	Salinité	T (°C)	pН	COD (µmol.l ⁻¹)	MES (mg.l ⁻¹)	COP %	COP (mg.l ⁻¹)
	38	24.1	8.04	174.2	2.3	2.2	0.05
	28.1	24.5	8.02	130.8	3.5	5.4	0.2
	24	24.5	8.04	266.7	2.8	6.3	0.2
	14.4	24.6	8.02	171.7	5.3	5.9	0.3
	8.5		7.85	212.5	6.2	3.8	0.2
	8.4	22.3	7.96	252.5	8.5	3.6	0.3
	8		7.84	211.7	8.4	4.4	0.4
	1.2	25	7.7	257.5	10	4.6	0.5
	1.5	24.1	7.97	223.3	6.4	5.7	0.4
	1.5	23.9	7.9	155.8	4.9	7	0.3
	0.2	23.8	7.88		6	5.1	0.3
ARLES							
22/07	0.12	24	7.8	240.8	14.5	2.9	0.4
23/07	0.5	23.1	7.65	177.5	19.6	2.9	0.6
24/07	0.15	23.6	7.79	163.3	15	3.2	0.5
25/07	0.7			202.5	8.9	3.2	0.3
26/07	0.2	24.6	8	148.3	9.6	3.4	0.3

Tableau A4.3.2 : Caractéristiques physico-chimiques des prélèvements effectués dans le delta du Rhône en juillet 1992.



Figure A4.3.1 : Mission HYUN - Juillet 1992. Variations du COD (μ mol.l⁻¹) en fonction de la salinité.



Figure A4.3.2 : Mission HYUN - Juillet 1992. Variations des MES et du COP (mg. l^{-1}) en fonction de la salinité.

Simazine



Figure A4.3.3 : Droite de régression des concentrations en simazine en fonction de la salinité. Le coefficient r^2 est significatif à 0.1% (F=40).

DEA



Figure A4.3.4 : Droite de régression des concentrations en DEA en fonction de la salinité. Le coefficient r^2 est significatif à 0.1% (F=63).

ANNEXE 5

-18

EMPREINTES CHROMATOGRAPHIQUES CARACTERISTIQUES DES ESTUAIRES OBTENUES EN CPG/NPD



Figure A5.1 : En (a) : chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon prélevé sur la Charente en février 1992. En (b) : signal correspondant aux pics uniques. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine,. terbuthylazine.



Figure A5.2 : En (a) : chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon prélevé sur la Gironde en juin 1993. En (b) : signal correspondant aux pics uniques. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine, 4. terbuthylazine, 5. métolachlor, 6. pretilachlor.



remps (mm.)

Figure A5.3 : En (a) : chromatogramme obtenu en CPG/NPD sur colonne DB5 pour un échantillon prélevé à Poses en octobre 1993. En (b) : signal correspondant aux pics uniques. Les pics identifiés sont les suivants : 1. DEA, 2. simazine, 3. atrazine, 4. terbuthylazine, 6. prétilachlor, teb = tebutam, prom = promeryne.