Le biote comme outil pour le suivi des herbicides sur le littoral bas-normand

PASSIGNAT Céline[1], BASUYAUX Olivier[2] , LE GLATIN Stéphane[1], GUEDAS Anne[1], DUBREULE Christelle[1], TANGUY Camille[1], BOUCHART Valérie[1]

[1]LABÉO, 1 route de Rosel, Saint Contest, 14053, Caen Cedex, France – **www.laboratoire-labeo.fr**

[2] SMEL – Centre expérimental, Zone conchylicole, Parcelle n°45, 50560 Blainville sur mer – **www.smel.fr**

MOTS CLEFS

Suivi environnemental; Biotes; Moules; Herbicides; QuEChERS; Chromatographie en phase liquide

Contexte

La surveillance des milieux aquatiques est une obligation réglementaire dans le cadre de deux directives (Directive cadre sur l'eau 2000/56/CE et directive cadre stratégie pour le milieu marin 2008/56/CE). Ainsi, des programmes de biomonitoring se sont développés afin d'évaluer les quantités et la distribution de certains contaminants dans les individus d'espèces choisies pour leurs particularités bioécologiques. Cette méthodologie est appliquée en France pour les métaux et quelques molécules organiques (HAP, PCB) au sein du Réseau d'Observation de la Contamination Chimique du milieu marin (ROCCH anciennement RNO) de l'IFREMER. Pour ce projet (2014-2016), 34 herbicides les plus susceptibles d'impacter le milieu ont été sélectionnés selon différents critères : leur quantité utilisée en Basse Normandie, leur toxicité potentielle et leur rémanence [1].

Zones d'études

Quatre sites de la côte normande :

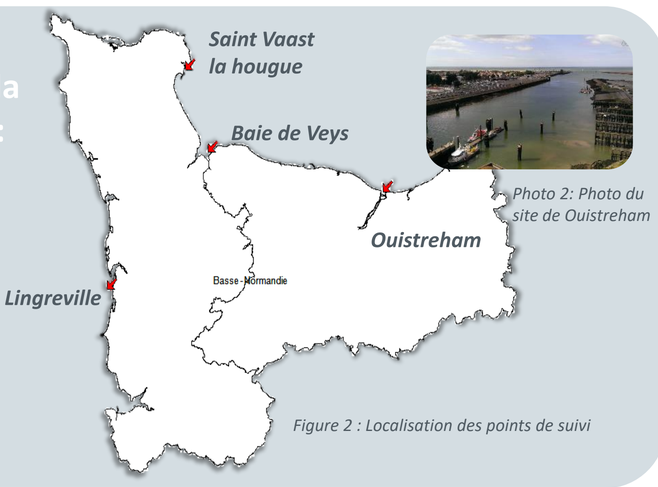


Photo 1 : Photo du site de Lingreville

Photo 2: Photo du site de Ouistreham

Figure 2 : Localisation des points de suivi

Matériels et méthodes

3 espèces intégratrices sélectionnées :

Photo 3: Hymeniacydon perlevis

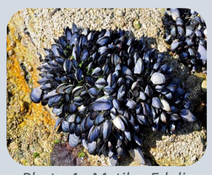
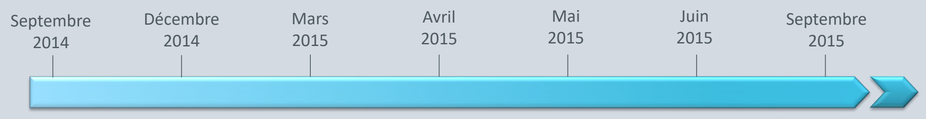


Photo 4 : Mytilus Edulis

Photo 5: Crassostrea gigas

Utilisation de cages pour certains sites

Planning de prélèvements :



Les biotes sont nettoyés, décoquillés, rincés et congelés à -20°C

Analyse par UPLC-MSMS

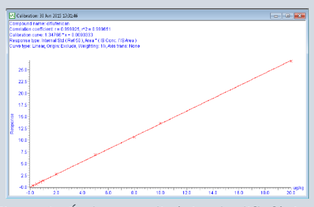


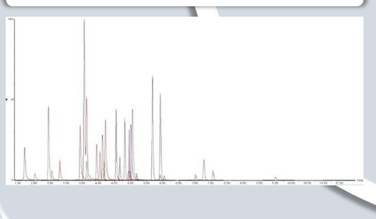
Figure 1 : Étalonnage linéaire du diflufénican

Division en deux analyses : la première de 32 molécules décrite par la suite et la seconde contenant spécifiquement le glyphosate et l'AMPA

Chaîne Waters Acquity UPLC couplée au spectromètre de masse en tandem Xevo TQ MS

- Colonne Acquity UPLC BEH C18 : 150 mm x2,1 , 1,7 µm (Waters®)
- Température du four : 40 °C
- Débit de la phase mobile : 0.40 ml/min

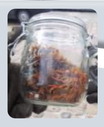
Temps d'analyse = 27 min



Gradient d'élution

Temps en min	EUP 0,1 %AF (en %)	ACN 0,1% AF (en %)
0	90	10
0,5	90	10
4	50	50
16	10	90
16,2	0	100
20	0	100
20,2	90	10
27	90	10

Préparation d'échantillons

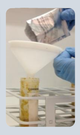


Broyage à l'ultraturrax ou au broyeur à couteaux pour les éponges

Pesée de 10 g d'échantillon et ajout des étalons internes

Ajout de 10 mL d'acétonitrile et agitation pendant 1 min

Ajout du sachet d'extraction QuEChERS (Méthode EN) puis agitation pendant 1 min



Centrifugation (3000 rpm, 4 min, 4°C)

Transfert de 6 mL de la phase supérieure (ACN) dans un tube de purification dSPE. Agitation pendant 1 min au vortex puis centrifugation (3000 rpm, 4 min, 4°C)

Transfert de2 mL du surnageant, ajout de 20 µL d'une solution d'acide formique à 5 % dans ACN. L'extrait est conservé au congélateur (-20 °C)

Avant injection, transfert de 200 µL de l'extrait dans un pilulier et ajout de 800 µl d'une solution d'acide formique à 0.05 % dans l'eau

Caractérisation de méthode

Suivi des recommandations du guide LAB GTA 26 (Décembre 2010) et des prescriptions de la norme NF V 03-110 (2010)

Détermination des taux de récupération : 100% des molécules ont un rendement moyen compris entre 80 et 120%

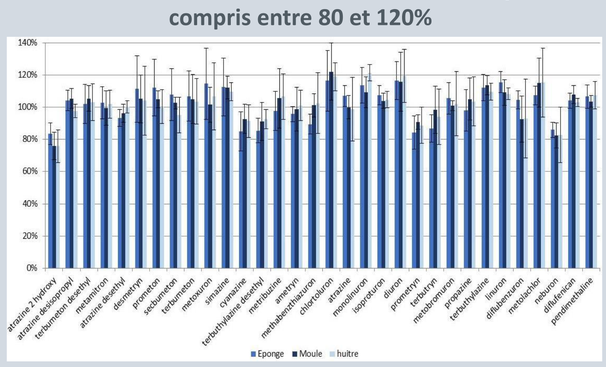


Figure 2 : Rendements moyens (n>4) pour chaque matrice à 10µg/kg poids frais

Détermination des profils d'exactitude pour l'ensemble des molécules à minimum deux niveaux (LQ = limite de quantification et LMR = Limite maximale en résidus

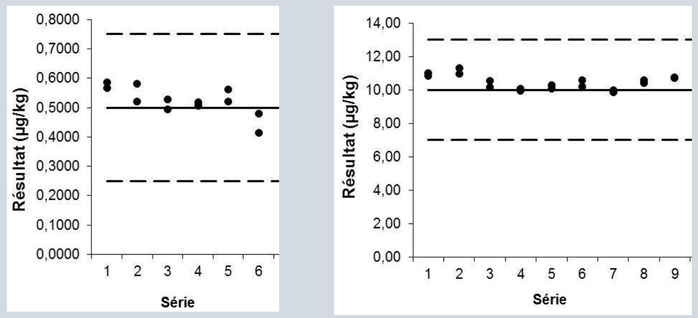


Figure 3: Résultats de la caractérisation de méthode du diflufénican à la limite de quantification (0,5µg/kg de poids frais) et à la LMR par défaut c'est-à-dire à 10µg/kg PF

Détermination de la limite de quantification pour chaque molécule

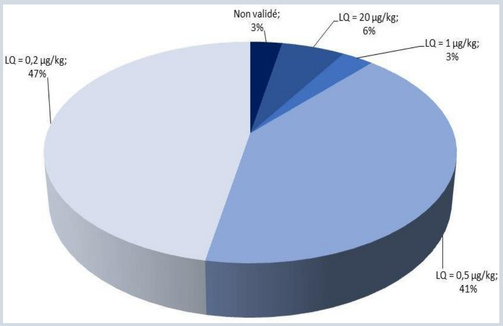


Figure 4 : Pourcentage des molécules validées en fonction de leur limite de quantification (LQ)

Résultats

Présence de 5 molécules quantifiées sur les 33 analysées

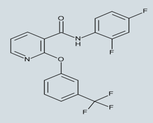


Figure 5 : Diflufenican

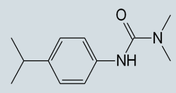


Figure 6 : Isoproturon

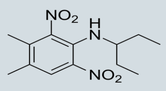


Figure 7 : Pendiméthaline

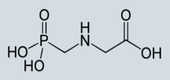


Figure 8 : Glyphosate

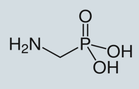


Figure 9 : Acide aminométhylphosphonique (AMPA)

Sélection des espèces intégratrices

Les concentrations dans les moules et les huîtres sont plus élevées pour le diflufénican, l'isoproturon et la pendiméthaline.

	Site A			Site B			Site C			Site D		
	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges
sept-14	0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	-	-
déc-14	0,8	2,2	0,5	<0,5	1,6	< 0,5	1,3	1,9	<0,5	3,1	5,1	-
mars-15	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,8	<0,5	0,5	1,9	<0,5	2,3	2,0	<0,5
avr-15	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	0,7	1,1	<0,5	4,7	-	-
mai-15	1,4	1,4	<0,5	0,5	0,8	0,5	0,9	0,9	<0,5	1,0	-	-
juin-15	0,5	0,9	<0,5	0,9	1,0	0,7	1,2	1,6	0,5	1,1	0,8	-
sept-15	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5

Tableau 1 : Résultats en pendiméthaline pour les trois espèces et les quatre sites en µg/kg de poids frais. Les tirets dans le tableau représentent les cages vandalisées lors de l'étude

Les concentrations dans les éponges sont plus élevées pour le glyphosate et l'AMPA

	Site A			Site B			Site C			Site D		
	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges	Moules	Huîtres	Eponges
sept-14	< LD	< LD	< LQ (12,30)	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	-	-
déc-14	< LD	< LQ (9,71)	< LQ (12,01)	< LD	< LD	< LQ (8,94)	< LD	< LD	< LD	< LD	< LQ (9,00)	-
mars-15	< LQ (10,01)	< LD	< LQ (10,41)	< LD	< LD	< LQ (7,98)	< LD	< LD	**20,7**	< LQ (13,9)	< LD	< LD
avr-15	< LD	< LD	< LQ (10,67)	< LD	< LD	< LQ (8,79)	< LD	< LD	< LQ (8,71)	< LD	-	-
mai-15	< LD	< LD	< LQ (9,46)	< LD	< LD	**21,2**	< LD	< LD	< LQ (18,35)	< LD	-	-
juin-15	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	-
sept-15	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LQ (7,85)

Tableau 2 : Résultats en Acide aminométhylphosphonique (AMPA) pour les trois espèces et les quatre sites en µg/kg de poids frais.

Réalisation de la surveillance du diflufénican avec la moule - Comparaison temporelle et spatiale de cet herbicide

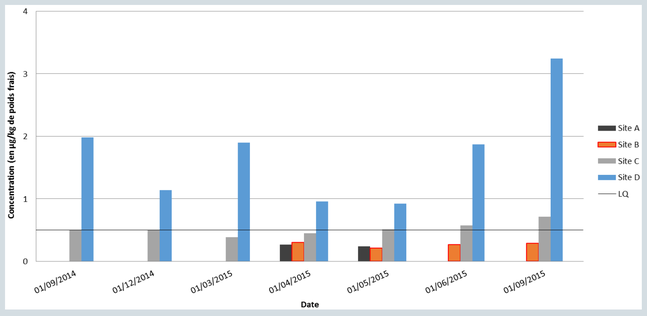


Figure 10 : Comparaison en diflufénican en fonction des lieux et des périodes de prélèvements dans la moule

Les concentrations les plus élevées en diflufenican sont observées sur le site D puis dans une moindre mesure sur le site C. Pour ces deux sites, les teneurs sont les plus fortes en septembre 2015

Conclusion

Ces espèces intégratrices constituent un outil de surveillance bien adapté pour les herbicides les plus susceptibles d'impacter le milieu. Les données collectées lors de cette étude montrent la complémentarité des espèces selon la nature des molécules suivies. Les huitres, les moules et les éponges pourraient ainsi être utilisées comme espèces sentinelles dans le cadre d'un réseau de surveillance des pesticides les plus utilisés en Normandie. Ces espèces sont présentes dans de nombreux secteurs du littoral ou, à défaut, pourraient être placées dans des cages.

RÉFÉRENCES

[1] Laurens, Y (2013) Directive Cadre sur l'Eau (DCE) à la Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM) : Suivi des micropolluants dans le biote marin normand, réalisée à l'initiative de l'Agence de l'eau Seine Normandie. AESN, Septembre

[2] Basuyaux O., C. Caplat, S. Le Glatin & ML Mahaut, 2012. Utilisation *d'Hymeniacidon perlevis* comme bioindicateur de l'environnement littoral. Programme SPONTOX 2011-2012. Rapport technique : 145 p.

[3] Anastassiades M, Lehotay SJ, et al. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) approach for the determination of pesticide residues, 2002, European Pesticide Residues Workshop, EPRW, Rome, Book of Abstracts

[4] Lazartigues A, Wiest L, Baudot R, Thomas M, Feidt C, Cren-Olivé C. Multiresidue method to quantify pesticides in fish muscle by Quechers_based extraction and LC-MS-MS. Anal Bioanal Chem (2011) 400: 2185-2193

Flashez et contactez

Céline PASSIGNAT

Celine.passignat@laboratoire-labeo.fr

Partenaires financeurs : LA MANCHE CONSEIL DÉPARTEMENTAL, RÉGION NORMANDIE

Partenaires techniques : Smel Synergie Mer Et Littoral Recherche & développement, LABÉO Pôle d'analyses et de recherche de Normandie