



PROPOSITION D'ETUDE PRELIMINAIRE SUR L'APPROCHE
CAPTEUR PASSIF/TIE

RAPPORT FINAL



Titre :

Mise en place d'une approche couplant chimie et biologie dite de "Toxicity Identification Evaluation (TIE)" et combinant l'utilisation de capteurs passifs

Nom du responsable du projet :

Hélène Budzinski

Etablissement :

Centre de Développement et de Transfert Analytique (CDTA)
Institut des Sciences Moléculaires (ISM) – UMR 5255 CNRS
Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'Environnement (LPTC)
Université Bordeaux 1
351 crs de la Libération
33405 Talence

Participants au projet :

H. Budzinski, DR CNRS
S. Augagneur, IE CNRS
K. Le Menach, AI CNRS
L. Peluhet, Tech CNRS

En collaboration avec :

Dr. Selim Ait-Aissa
INERIS

Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
Unité Evaluation des Risques Ecotoxicologiques
Parc ALATA - BP2
60550 Verneuil en Halatte

SOMMAIRE

<u>I- Contexte et questions posées</u>	1
<u>II- Principe de l'approche TIE</u>	3
<u>III- Travaux mis en œuvre et Méthodologie</u>	4
<u>1- Stations choisies</u>	5
<u>2- Les POCIS</u>	5
<u>3- Echantillons prélevés et plan expérimental</u>	6
<u>4- Analyses chimiques et traitement des POCIS</u>	7
4-1 Analyses de la phase dissoute et de la phase particulaire	7
4-2- Extraction des POCIS et préparation des fractions organiques pour les biotests	8
<u>5- Mise en œuvre des biotests</u>	8
<u>IV- Résultats et Discussion</u>	10
<u>1- Expérimentation de novembre 2006</u>	10
<u>2- Expérimentation de mai 2007</u>	10
<u>V- Conclusion</u>	13
<u>Annexes</u>	17
<u>Annexe 1 - Liste Echantillons</u>	19
<u>Annexe 2 - Méthodologie de déploiement des POCIS sur le terrain</u>	20
<u>Annexe 3 - Méthodologie de préparation de fractions organiques de polarité différentes</u>	21
<u>Annexe 4 - Echantillons pour Biotests Novembre 2006 (EAUX)</u>	22
<u>Annexe 5 - Echantillons pour Biotests Novembre 2006 (POCIS)</u>	23
<u>Annexe 6 - Echantillons pour Biotests Mai 2007</u>	24
<u>Annexe 7 - Protocole d'analyse des échantillons</u>	25
<u>Annexe 8 - Condition d'analyse des échantillons</u>	35
<u>Annexe 9 - Résultats des Biotest pour la campagne novembre 2006</u>	47
<u>Annexe 10 - Données de concentration de la phase dissoute Mai 2007</u>	51
<u>Annexe 11 - Données de concentration de la phase particulaire Mai 2007</u>	55
<u>Annexe 12 - Analyses des différentes fractions</u>	59

Mise en place d'une approche couplant chimie et biologie dite de "Toxicity Identification Evaluation (TIE)" et combinant l'utilisation de capteurs passifs

I- Contexte et questions posées

Le rejet de substances toxiques d'origines naturelles ou de synthèse constitue un facteur préoccupant de la dégradation de la qualité de l'environnement. La dispersion volontaire ou involontaire de nombreuses substances (pesticides, organo-halogénés, hydrocarbures, métaux, ...) contamine l'environnement, y compris les endroits éloignés des sources d'émissions. L'existence de molécules toxiques pour la plupart non identifiées dans l'environnement, pose le problème d'une stratégie adaptée aux études sur l'évaluation de l'état de santé du milieu naturel. Le milieu aquatique est particulièrement préoccupant de par son rôle de réceptacle ultime des polluants, de par la sensibilité des espèces y vivant et de par son importance au niveau des cycles globaux.

Un des freins à des études complètes provient des méthodes de prélèvement et également des méthodologies analytiques employées, car non seulement l'analyse de plusieurs classes de composés nécessite la mise en œuvre de différents protocoles, chaque protocole comportant différentes étapes de préparation de l'échantillon. De plus ces méthodologies sont souvent longues, coûteuses et peu automatisables. L'analyse de substances organiques en phase dissoute demande en particulier une étape de concentration importante qui lorsque l'on utilise des méthodes conventionnelles (extraction liquide-liquide) peut prendre beaucoup de temps et consommer beaucoup de solvant. Le prélèvement est une opération délicate en ce qui concerne les contaminants organiques ; le prélèvement le plus utilisé est le prélèvement ponctuel. Ce dernier est un reflet de la composition de l'eau à un instant donné et pour une localisation précise. Il a un caractère éminent variable, notamment vis-à-vis des phénomènes de pollution. Une meilleure appréciation de ces variations ou tout simplement la détection des épisodes de pollution nécessitent une multiplication des prélèvements dans le temps et dans l'espace souvent coûteuse et difficile à mettre en œuvre. La périodicité des analyses est fonction de nombreux paramètres : on peut citer la qualité de l'eau proprement dite, en particulier si celle-ci est soumise à des pollutions permanentes ou occasionnelles, ou encore le choix des paramètres analytiques représentatifs de la pollution.

Dans l'optique de disposer de méthodologies analytiques compatibles avec les exigences en termes de rapidité, de nombre d'échantillons traités et de fiabilité de l'analyse environnementale moderne de « screening », il apparaît maintenant possible de développer et d'utiliser de nouveaux systèmes d'échantillonnage intégratifs. Ces systèmes peuvent donner une image intégrée sur le temps de la contamination de la colonne d'eau vis-à-vis de la phase dissoute. Ils présentent également l'avantage de pré-concentrer la contamination de la phase dissoute dans une matrice assez simple (un exemple est donné par les POCIS : Polar Organic Contaminant Integrative Sampler) (Vrana et al., 2005 ; Togola et Budzinski, 2007)). Ils sont disposés dans le milieu aqueux où ils vont capter les molécules et les retenir sur une phase absorbante ou adsorbante sur l'ensemble de la durée de l'exposition, ce qui va concentrer les composés par rapport aux concentrations réelles du milieu. L'intérêt de ces nouveaux outils réside dans leur capacité à adsorber des composés sur une grande période de temps ce qui permet de s'affranchir des prélèvements ponctuels dans le milieu : la quantité présente sur le préleveur correspond à la moyenne des concentrations sur la durée totale de l'exposition. De plus, les propriétés accumulatives de ces outils permettent d'envisager la détection de produits présents dans le milieu à des concentrations inférieures aux limites de détection analytiques dans le cas des prélèvements ponctuels, comme les métabolites de certains composés, ou les stéroïdes, souvent présents dans

l'environnement à des concentrations inférieures au ng/L, non détectables mais identifiées comme toxiques (Kolpin et al., 2004). L'analyse ne portera pas en effet sur quelques litres d'eau mais sur la quantité accumulée de composés au cours du temps et donc correspondant à des dizaines voir des centaines de litres d'eau, pour une faible quantité de phase (Togola, 2006).

Bien qu'une attention particulière soit portée à l'introduction de substances dangereuses dans le milieu aquatique (OSPAR, Conventions d'Oslo et de Paris et Directive Cadre sur l'eau), il est maintenant devenu indispensable de s'orienter vers des méthodes de "screening" moléculaires en raison de l'introduction continue et permanente (à l'état de traces) de nouveaux contaminants dont on ne connaît encore ni la structure ni les effets (pesticides, produits pharmaceutiques, détergents, cosmétiques, produits naturels rejetés par l'homme... et tous ceux que l'on ne connaît pas). Leur identification nécessite de disposer de moyens analytiques performants et de caractérisation chimique couplés à des outils de diagnostic de toxicité potentielle. Une autre des difficultés rencontrées pour une évaluation correcte de l'état de contamination de ces systèmes provient du caractère multi-contaminants (multi-sources, multi-classes chimiques) et de la grande variabilité temporelle et spatiale du milieu aquatique.

Afin d'identifier les composés chimiques toxiques présents dans la phase dissoute, on peut développer une méthodologie basée sur les concepts utilisés dans l'approche dite "*Toxicity Identification Evaluation (TIE)*" initiée par l'US EPA (*United States Environmental Protection Agency*) (Norberg-King et al., 1991) sur des effluents. C'est une méthode d'identification de polluants qui couple des analyses chimiques à des procédures de fractionnement de l'échantillon suivies de tests toxicologiques. Ces fractionnements successifs de l'échantillon permettent d'éliminer spécifiquement certaines classes de composés et donc de simplifier et de diviser la complexité des échantillons environnementaux de façon à mettre en évidence les substances responsables de la toxicité observée dans l'échantillon total. Les fractions identifiées comme toxiques font l'objet d'une analyse moléculaire quantitative par différentes techniques analytiques de spectrométrie de masse afin d'identifier le ou les agents chimiques responsable(s) de l'effet toxique mis en évidence par les tests *in-vitro*.

Plusieurs travaux ont utilisé cette approche d'évaluation de l'identification de la toxicité (TIE) (Thomas et al., 2002 ; Isidori et al., 2003 ; Pessala et al., 2004). Les tests biologiques pour évaluer le danger lié à la présence de contaminants multiples dans les matrices environnementales, tels que les effluents liquides, les boues de stations d'épuration, de dragage, sont utilisés depuis quelques années, parfois à des fins réglementaires (surveillance des effluents, déchets). Le besoin de "micro tests" mieux adaptés à de petits échantillons, de bon rapport coût / efficacité, avec une capacité de diagnostic s'est également parallèlement affirmé (Janssen et al., 2000). Ce type de mesures doit permettre des « *screening* » rapides sur de nombreux échantillons afin d'acquérir des jeux de données suffisants pour l'évaluation du risque.

Le but de ce projet est donc, en se focalisant sur la phase dissoute de la colonne d'eau, de tester les potentialités d'une approche combinant capteurs passifs et une méthodologie permettant d'identifier les composés responsables de la toxicité potentielle mise en évidence par des biotests (méthode dite « TIE »).

II- Principe de l'approche TIE

Le principe de cette approche d'évaluation de l'identification de la toxicité (TIE) repose sur l'identification des fractions toxiques par comparaison de la toxicité de l'échantillon avant et après la réalisation d'un traitement physico-chimique permettant spécifiquement d'éliminer certaines classes de composés. Le déroulement méthodologique de cette approche est schématisé sur la Figure 1.

Les différents tests toxicologiques sont tout d'abord réalisés sur l'échantillon total. Le premier traitement de l'échantillon réalisé peut être, par exemple, soit une filtration pour isoler les phases dissoutes et particulaires, soit une complexation des cations métalliques avec l'EDTA pour isoler les métaux. Si après ce traitement préliminaire, les tests biologiques ne révèlent plus ou partiellement plus de toxicité, cela signifie que les composés responsables de la toxicité observée dans l'échantillon brut sont respectivement, soit adsorbés sur le matériel particulaire, soit des contaminants métalliques. Dans le cas contraire où l'échantillon fractionné présenterait la même toxicité que celle originellement observée, la fraction organique est identifiée comme étant responsable de cette toxicité. Un fractionnement primaire est alors réalisé en piégeant la fraction organique par extraction sur phase solide (SPE sur C_{18} , sur phases copolymériques, ...). Les composés organiques sont ainsi fractionnés en fonction de leur polarité (fractions de composés apolaires, moyennement polaires et polaires). Les tests biologiques sont conduits sur ces fractions pour isoler celle(s) qui contiennent le(s) composé(s) toxique(s). Ces fractions étant encore relativement complexes, il est généralement nécessaire d'effectuer des biotests sur des sous-fractions afin de diminuer encore le nombre de composés par fraction et remonter ainsi successivement au(x) composé(s) toxique(s) responsable(s). Ce sous-fractionnement est alors réalisé par chromatographie en phase liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC). L'analyse chimique de la ou des fractions identifiées comme étant toxiques permet d'identifier spécifiquement les composés chimiques responsables (Bodeldijk *et al.*, 2002 ; Benfenati *et al.*, 2003 ; Cargouet *et al.*, 2004).

L'intérêt de la démarche proposée réside donc dans la complémentarité des tests biologiques utilisés permettant de balayer un large spectre en termes d'effets toxiques potentiels (toxicité générale, génotoxicité, perturbation endocriniennes, ...) et dans la caractérisation chimique approfondie envisagée grâce aux différents moyens analytiques mobilisés. Cette association pluridisciplinaire entre des tests de toxicité spécifiques et des moyens analytiques puissants d'identification moléculaire présente un fort potentiel qui devrait permettre d'identifier de nouveaux polluants responsables des effets toxiques recherchés.

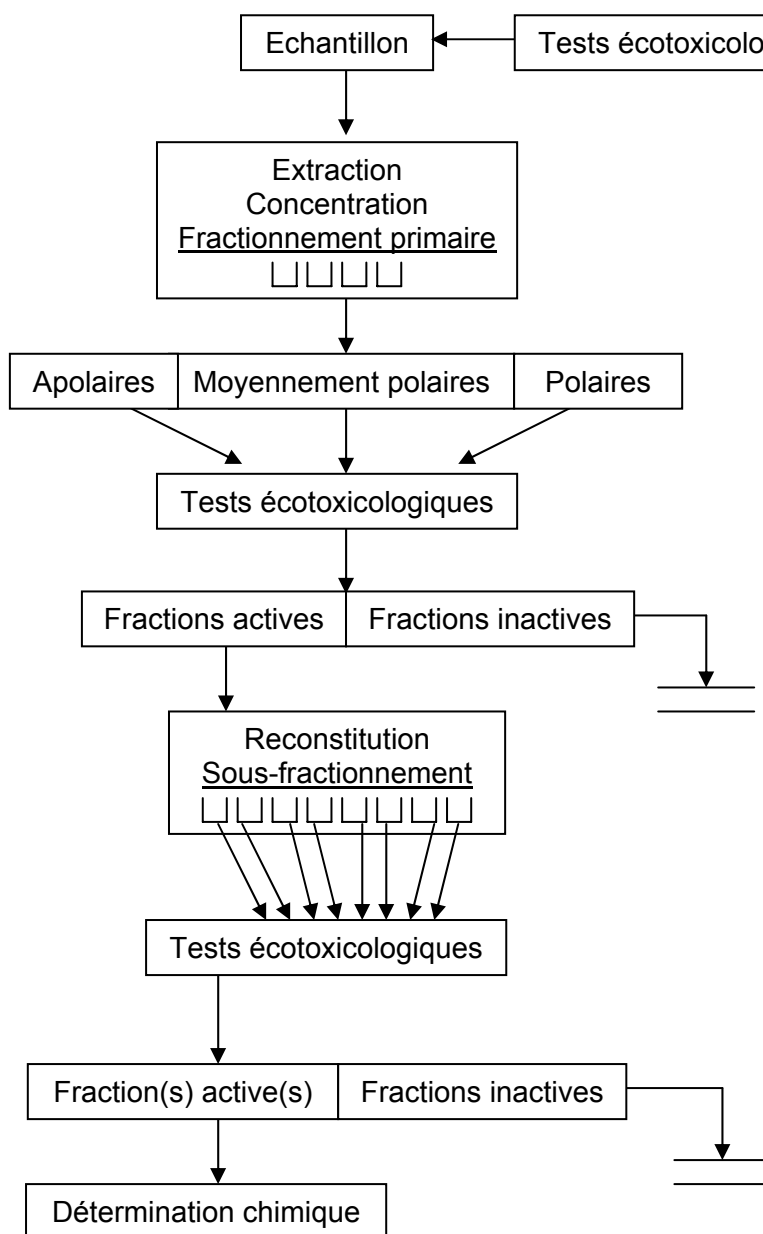


Figure 1 : Méthodologie générale de l'approche TIE.

III- Travaux mis en œuvre et Méthodologie

Nous avons donc entrepris de tester l'intérêt d'utiliser des capteurs passifs en comparaison avec les échantillonnages classiques ponctuels et en parallèle de tester l'intérêt d'une approche TIE sur ce type d'échantillons (phase dissoute et capteurs passifs). Pour cela une étude préliminaire a été initiée avec le soutien de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne.

Les capteurs passifs choisis ont été les POCIS du fait de leur potentialité à échantillonner les composés hydrophiles et plus particulièrement les pesticides.

1- Stations choisies

Les deux stations étudiées ont été :

- Portets (33) sur la Garonne au droit de la station Magest (Ponton, Port)
- Nérac (47) sur la Baise (site EDF)

Pour une station d'échantillonnage deux types de prélèvements ont été testés (Annexe 1) : un prélèvement classique d'eau ponctuel et un prélèvement via un échantillonneur passif de type POCIS (Polar Organic Compounds Integrative Sampler).

2- Les POCIS

Les POCIS sont constitués d'environ 100 mg d'une phase polymérique. Pour notre étude nous avons choisi une phase Oasis HLB® qui est un copolymère macroporeux constitué de deux monomères : le divinylbenzène lipophile et le N-vinylpyrrolidone hydrophile. Cette phase est contenue entre deux membranes de polyéthylsulfone dont le diamètre des pores (0,1 µm) permet le passage des analytes mais retient les colloïdes et les matières en suspension (Figure 2).

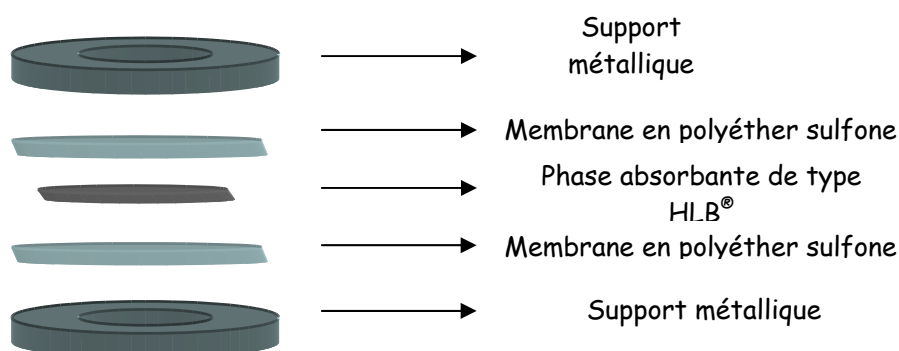


Figure 2 : Principe d'un POCIS.

Les POCIS sont fournis par Exposmeter (Suède), société dépositaire pour l'Europe du brevet déposé par l'USGS (United States Geological Survey). Ils sont fournis sertis et prêts à l'emploi (Figure 3). Pour les installations sur le terrain, un dispositif fourni par le revendeur permettant d'exposer simultanément 3 échantillonneurs est fourni par le revendeur. Un système de protection des échantillonneurs est aussi disponible, qui limite le dépôt de macro-débris sur le dispositif et permet de fixer l'ensemble sur un support et d'ajouter des poids pour le lester et ainsi assurer son exposition permanente.



Figure 3 : Photographie d'un POCIS seul et en place dans la cage d'échantillonnage.

3- Echantillons prélevés et plan expérimental

Les échantillonneurs passifs ont été laissés 1 mois dans le milieu (Annexe 1 et 2). L'eau a été échantillonnée selon les recommandations de la norme NF EN 25667. Les prélèvements ainsi que l'expérimentation POCIS ont été mis en œuvre en novembre 2006 et mai 2007. En novembre 2006 une expérimentation préliminaire a été effectuée pour caler différents paramètres (notamment concernant la méthodologie TIE et les biotests). Après cette expérimentation préliminaire, l'expérimentation à proprement parlé a été conduite d'avril 2007 à mai 2007.

L'échantillonnage ponctuel a été effectué au moyen d'un préleveur lesté. Les prélèvements (4 L) ont été effectués dans des bouteilles de verre ambrées, préalablement calcinées (450°C, 6h). L'eau brute a été prélevée et traitée en suivant l'échantillonnage. La filtration a été effectuée sur des filtres en fibre de verre GF-F, de diamètre de pore 0,7 µm, préalablement calcinés (450°C, 6h). Pour éviter toute dégradation, les échantillons ont été filtrés et extraits le jour même du prélèvement.

Expérimentation novembre 2006 :

Le but de cette expérimentation étant une mise au point et une optimisation de l'approche capteur passif/prélèvement ponctuel couplée aux biotests, on n'a pas prélevé d'eau pour analyse chimique. Deux types d'échantillons ont été testés quant à leur réponse vis-à-vis des biotests (cf. paragraphe 5 ci-dessous ; Annexe 3) : l'eau et l'échantillonneur passif.

Concernant les deux échantillons d'eau (Nérac et Portets) on a testé : l'eau filtrée, l'eau filtrée complexée (élimination des métaux), deux extraits (extraction liquide/liquide) organiques de polarités différentes (extrait dichlorométhane et extrait éthylacétate) (Annexe 4).

Concernant les POCIS on a testé différentes fractions de polarités croissantes (Annexe 3). Pour l'échantillonneur passif, les composés piégés ont été désorbés (ou extraits) par solvant. Chaque fraction est testée (Annexe 5). Elles sont au nombre de trois : fraction 1 : dichlorométhane ; fraction 2 : dichlorométhane/méthanol (50/50, v/v) ; fraction 3 : méthanol.

Les différents échantillons ont été testés quant à leur toxicité (activité oestrogénique, androgénique et anti-androgénique) et de type EROD (mécanismes oxydatifs).

Expérimentation mai 2007 :

Pour cette phase d'expérimentation des échantillons d'eau ont été prélevés (à titre de comparaison et de compréhension) pour analyse chimique. Seuls les échantillonneurs passifs ont été testés quant à leur réponse vis-à-vis des biotests suite aux résultats de l'expérimentation de novembre 2006 (cf. paragraphe 5 ci-dessous ; Annexe 3). Concernant les POCIS on a testé différentes fractions de polarités croissantes (Annexe 3). Pour l'échantillonneur passif, les composés piégés ont été désorbés (ou extraits) par solvant. Chaque fraction est testée (Annexe 6).

Les différents échantillons ont été testés quant à leur toxicité (activité oestrogénique, androgénique et anti-androgénique) et de type EROD (mécanismes oxydatifs).

Des analyses ont été entreprises sur le ou les sous-échantillons pour tenter d'identifier les composés responsables de la toxicité. Les mêmes protocoles analytiques que pour l'analyse chimique (cf. paragraphe 4 ci-dessous) ont été mis en œuvre après reconcentration dans le solvant d'injection adapté aux différentes classes de composés (Annexes 7 et 8).

Remarques :

1- Des blancs (y compris de prélèvement) sont systématiquement faits en parallèle de chaque échantillons (fractions) pour s'affranchir d'éventuelles contributions à la toxicité de composés interférents présents dans les solvants et réactifs.

2- Concernant l'expérimentation de mai 2007 les POCIS du site de Portets ont été récupérés « éclatés » sous l'effet du courant (période de crue importante associée à de fortes précipitations) et se sont donc révélés inexploitable.

4- Analyses chimiques et traitement des POCIS

4-1 Analyses de la phase dissoute et de la phase particulaire

La phase dissoute a été analysée pour les prélèvements de mai 2007 pour les micro-polluants organiques (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), triazines (TRI), produits pharmaceutiques (Pharma), alkylphénols (AKP), Polychlorobiphényles (PCB), pesticides organochlorés (OCP), diuron (et phényl-urées), stéroïdes hormonaux (HORM), pesticides organophosphorés (PHOS), pyréthrénoïdes (PYR)) par couplage chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase liquide couplées à la spectrométrie de masse après extraction liquide/liquide ou SPE selon les composés dosés. La phase particulaire a été analysée également pour les HAP, PCB, pesticides chlorés et alkylphénols. Les différents protocoles et conditions d'analyse sont donnés Annexe 7 et Annexe 8.

En parallèle de chaque dosage effectué (extractions liquide/liquide, sur phase solide et assistée par micro-ondes), des analyses de matrices de référence, certifiées ou enrichies artificiellement avec les composés recherchés, ont été réalisées afin de valider les protocoles analytiques. Les résultats obtenus, exprimés en pourcentage par rapport à la valeur théorique, sont montrés Tableau 1.

De plus, les protocoles d'analyses des différentes classes de composés ont été validés au cours de différents travaux de thèse réalisés au laboratoire (Baumard, 1997 ; Letellier, 1998 ; Thompson, 1999 ; Mazéas, 2000 ; Perraudin, 2004 ; Labadie, 2004 ; Mazéas, 2005 ; Tapie, 2006 ; Togola, 2006). En outre, des blancs de manipulation ont été mis en œuvre afin de mesurer et contrôler le niveau du bruit de fond des composés analysés.

Classe de composés	Phase	Matrice de référence	Rendement d'extraction (%)
AKP	Dissous	enrichie	50 à 120
	Particulaire	enrichie	50 à 88
HAP	Dissous	enrichie	55 à 105
	Particulaire	SRM 1941a (Promochem Europe, France)	70 à 105
	Particulaire	SRM 1944 (Promochem Europe, France)	70 à 95
OCP	Particulaire	SRM 1944 (Promochem Europe, France)	80 à 110
	Dissous	enrichie	75 à 95
Diuron	Dissous	enrichie	70 à 95
TRI	Dissous	enrichie	75 à 95
PHOS	Dissous	enrichie	65 à 85
HORM	Dissous	enrichie	70 à 90
PHARMA	Dissous	enrichie	50 à 120
PCB	Particulaire	SRM 1944 (Promochem Europe, France)	70 à 90
	Dissous	enrichie	70 à 95

Tableau 1 : Rendements d'extraction obtenus pour le dosage (matrices certifiées ou enrichies artificiellement).

4-2- Extraction des POCIS et préparation des fractions organiques pour les biotests

Quand les POCIS sont déployées dans le milieu naturel, la première étape consiste en un rinçage de la POCIS à l'eau osmosée afin d'éliminer les dépôts de particules et le biofilm fixés sur l'échantillonneur. Le système est ensuite dissocié : la phase est récupérée dans un bécher, les parois de la membrane sont rincées à l'eau osmosée. La phase est transférée sur une micro-colonne de verre obstruée par du coton de verre préalablement nettoyé (multiples rinçages au dichlorométhane dans un bain à ultrasons). Le système d'extraction (micro-colonne/coton) est taré avant le dépôt de la phase afin de pouvoir recalculer la masse exacte de phase récupérée de l'échantillonneur. Après séchage pendant une heure sous vide, l'élution est effectuée par différents solvants selon la polarité désirée (Annexe 3).

Nous avons utilisé trois types de solvants permettant une gradation en polarité (de peu polaire à très polaire) : fraction 1 : dichlorométhane ; fraction 2 : dichlorométhane/méthanol (50/50) ; fraction 3 : méthanol (Annexe 3). Une fois les fractions éluées, les différents échantillons sont reconcentrés et repris dans 200 ml de méthanol (tous les échantillons sont repris in fine dans le méthanol et dans le même volume pour pouvoir être comparés : échantillons « eaux » et échantillons « POCIS »).

5- Mise en œuvre des biotests

Les tests toxicologiques ont été mis en œuvre par l'INERIS (Dr. S. Ait-Aissa) qui a développé des compétences dans l'évaluation des effets moléculaires, biochimiques et physiologiques des perturbateurs endocriniens (PE) ou des composés dioxin-like *in vitro*. Plusieurs types d'effets permettant de révéler la présence de molécules potentiellement dangereuses ont été recherchés *in vitro* sur des échantillons bruts ou sur des fractions: activités oestrogéniques et androgéniques, activités EROD sur lignées cellulaires spécifiques. Les tests utilisés (Tableau 2) permettent de diagnostiquer des activités reprotoxiques et génotoxiques potentielles des échantillons testés.

Principe

Les tests *in vitro* sont basés sur l'utilisation de différentes lignées cellulaires qui expriment de manière stable un gène marqueur (gène rapporteur ou gène endogène) dont l'expression, facilement détectable par luminescence ou fluorescence, est directement régulée par le récepteur des œstrogènes (cellules MELN, Balaguer et al, 1999), des androgènes (cellules MDA-kb2, Wilson et al, 2002) ou de la dioxine (cellules PLHC-1, Ryan et Hightower, 1994). En présence dans le milieu de culture d'une substance capable de lier et d'activer le récepteur, le gène rapporteur est induit proportionnellement à la concentration en substance active (Figure 4). De par leur bonne sensibilité, ces tests permettent la détection de faibles concentrations de molécules biologiquement actives au sein de mélanges complexes.

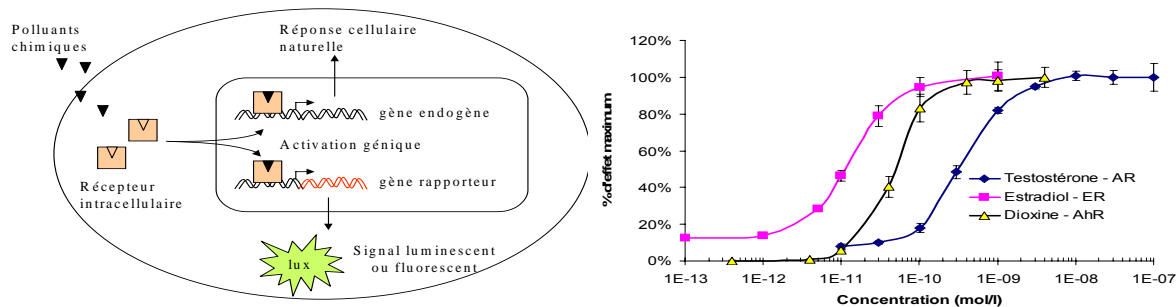


Figure 4: Principe des tests cellulaires utilisés pour la détection des ligands des récepteurs des œstrogènes (ER), des androgènes (AR) et de la dioxine (AhR).

Polluants détectés	Lignées cellulaires	Durée d'exposition	Mesure finale	Ligands de référence (sensibilité)
Composés (anti)estrogéniques	MELN	16 h	Gène rapporteur luciférase	Œstradiol (EC50 = 4ng/L)
Composés (anti)androgéniques	MDA-kb2	16 h	Gène rapporteur luciférase	Dihydrotestostérone (EC50 = 42 ng/L)
Composés <i>dioxin-like</i>	PLHC-1	4h et 24h	Gène endogène Cyp1A	Dioxine (EC50 = 16 ng/L)

Tableau 2 : Description générale des tests cellulaires utilisés.

Méthodologie

Les lignées cellulaires MELN et MDA-kb2, dérivées de cellules de cancer du sein, sont cultivées à 37°C sous 5% de CO₂ dans du milieu nutritif complet DMEM (Dulbecco's modified Earles Medium, Gibco) en présence de 5% de sérum de veau fœtal (SVF) et 1% d'antibiotiques. Les cellules PLHC-1, dérivées de cancer du foie de vairon tropical, sont cultivées à 30°C sous CO₂ dans du milieu EMEM (Earle's salt minimal essential medium, Gibco) supplémenté par 5 % de SVF et 1% d'antibiotiques. Vingt-quatre heures avant le test, les cellules sontensemencées en plaques de cultures de 96 puits à raison de 10⁵ cellules par puits. Pour le test d'activité oestrogénique (cellules MELN), le milieu est remplacé par du milieu dépourvu de rouge de phénol et en présence de SVF préalablement déstéroïdé.

Les cellules sont exposées pendant 4 ou 6 h (PLHC-1) et/ou 24 h (MELN, MDA-kb2, PLHC-1) aux différents extraits dilués 200 fois dans le milieu de culture (concentration finale de 0.5 % v/v), ceci afin de s'affranchir d'une toxicité du solvant. Chaque plaque de culture inclue un témoin négatif (solvant seul) et un témoin positif (œstradiol 10nM, dihydrotestostérone 10 nM ou dioxine 1nM, selon le test). Après exposition, l'activité luciférase (cellules MELN et MDA-kb2) est mesurée par luminescence après ajout du substrat luciférine (0.3 mM) dans les puits. L'induction du CYP1A (cellules PLHC-1) est déterminée par la mesure de l'activité EROD (7-éthoxyrésorufine-O-dééthylase) au spectrofluorimètre après ajout de 7-éthoxyrésorufine (2 µM) dans les puits. Les résultats sont exprimés en % de l'activité maximale obtenue par le témoin positif.

IV- Résultats et Discussion

1- Expérimentation de novembre 2006

Les échantillons d'eau n'ont donné aucune réponse vis-à-vis des biotests utilisés, que ce soit l'eau filtrée ou l'eau filtrée complexée. Ceci peut être expliqué par le caractère trop dilué de la potentielle contamination chimique. Les résultats correspondant aux extraits d'eau et aux fractions POCIS sont présentés Annexe 9. Il n'y a pas d'activité oestrogénique ni androgénique (peut-être une petite activité anti-androgénique : POC 11 (fraction 1 POCIS Portets)). En revanche, il y a une activité AhR mais elle est aussi retrouvée dans les blancs (Eau 1, Eau 2, POC 1, 2, 3, 4), avec une forte réponse après une exposition de courte durée (6 h), puis une réponse qui s'atténue après 24h, signe qu'il s'agirait de produits rapidement métabolisables par les cellules, type HAP.

Suite à ces expérimentations préliminaires nous avons décidé de faire une série de tests pour trouver l'origine de ce signal artéfactuel (contamination des blancs): il a été localisé dans les solvants. De façon à assurer que les blancs ne poseraient plus de problèmes de réponses positives pour les biotests il a été décidé d'utiliser des bouteilles de solvant neuves, du matériel et de la verrerie dédiés dans une pièce spécifique ultra-traces. En mettant en œuvre ces précautions, les blancs n'ont plus montré de réponses positives aux biotests de type AhR. La seconde phase de l'étude a pu être envisagée.

2- Expérimentation de mai 2007

Nous avons choisi cette période de façon à pouvoir éventuellement intégrer une partie de la période d'utilisation des pesticides. Les POCIS ont été posés en avril 2007 et récupérés en mai 2007 après environ un mois de présence dans le milieu. Les biotests n'ont, pour cette série d'expérimentations, été mis en œuvre que sur les extraits POCIS du fait de la non réponse précédente sur les échantillons d'eau non reconcentrés et sur les extraits organiques obtenus sur 1 L d'eau, et du fait de la grande dilution attendue du fait des conditions climatiques.

Prélèvements ponctuels

Les résultats des dosages effectués sur le prélèvement ponctuel sont donnés Annexe 10 (phase dissoute) et Annexe 11 (phase particulaire) pour les deux sites. Les données particulières sont données à titre indicatif mais ne seront pas utilisées dans cette étude.

En ce qui concerne la phase dissoute les concentrations en HAP et PCB sont faibles de l'ordre de quelques ng/L. Concernant les OCP, aucun composé à l'exception du lindane n'a été détecté. Ce dernier est compris entre 1 et 2 ng/L ; les autres sont donc inférieurs au ng/L. Le diuron a été détecté à 12 ng/L à Nérac et 32 ng/L à Portets. Les alkylphénols ont été détectés pour les deux sites avec des concentrations de plusieurs dizaines de ng/L jusqu'à la centaine de ng/L pour le 4-NP à Nérac. Le NP1EC est très faible à Nérac (4,8 ng/L). Les NP1EO et NP2EO sont présents dans la gamme de la dizaine de ng/L. Aucun pesticide organophosphoré n'a été détecté (conc < 10 ng/L). Plusieurs composés pharmaceutiques ont été détectés : aspirine, ibuprofène, paracétamol, naproxène (conc de quelques ng/L à presque 20 ng/L). Certaines triazines ont été détectées : deséthylatrazine, simazine, atrazine. On a aussi détecté du carbofuran. Ces composés ont été détectés dans la gamme de quelques ng/L à plusieurs dizaine de ng/L (max 64 ng/L pour le carbofuran). Aucun pyréthrénoïde n'a été détecté (conc < 10 ng/L) ni aucun stéroïdes hormonaux (conc < 5 ng/L).

Dans l'ensemble, la phase dissoute s'est révélée peu concentrée certainement du fait des épisodes climatiques assez exceptionnels (longues périodes de précipitation avec une dilution importante).

POCIS

Les résultats concernant les trois fractions des POCIS de Nérac sont donnés Annexe 12. On ne retrouve aucun pesticide organophosphoré, aucun pyréthrénoïde dans les POCIS.

Les alkylphénols trouvés dans le prélèvement ponctuel sont retrouvés dans les POCIS (majoritairement dans la fraction 1 pour le 4NP et les NPEO, tandis que le NP1EC est dans la fraction 2). On retrouve également du bisphénol A et de l'octylphénol majoritairement dans la fraction 1.

Les composés pharmaceutiques trouvés dans le prélèvement ponctuel sont retrouvés dans les POCIS (fraction 1) mais des supplémentaires sont également retrouvés : doxépine, caféine, théophylline, gemfibrozil, diclofénac, salbutamol, terbutaline. La plupart de ces nouveaux composés sont majoritairement dans la fraction 2 (théophylline, gemfibrozil, diclofénac) et on en retrouve certains dans la fraction 3 (terbutaline, salbutamol).

Afin d'évaluer la pertinence des POCIS comme outils quantitatifs, la concentration des pharmaceutiques dans l'eau a été évaluée à partir de leur concentration dans les POCIS grâce aux taux d'échantillonnages évalués en laboratoire (Togola et Budzinski, 2007). Les résultats obtenus sont présentés Figure 5. Les résultats obtenus entre les deux méthodes sont cohérents, ce qui confirme le potentiel des POCIS comme outils quantitatifs.

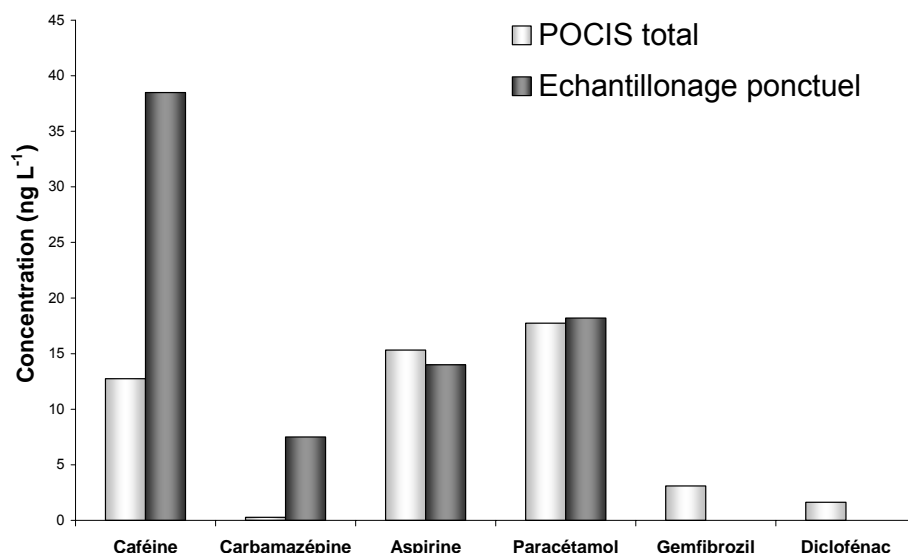


Figure 5 : Comparaison de la concentration des différentes substances pharmaceutiques obtenues par échantillonnage ponctuel et par échantillonnage passif (POCIS).

On trouve des traces d'oestradiol et de testostérone dans la fraction 3.

On retrouve tous les HAP même ceux de poids moléculaire assez élevé comme les penta-aromatiques. Ils sont majoritairement dans la fraction 1. On peut ainsi mettre en évidence la présence de benzo(a)pyrène par exemple en phase dissoute alors que pour le prélèvement ponctuel on ne pouvait le détecter (conc < 0,1 ng/L).

On trouve également le lindane dans la fraction 1 mais également le 4,4'DDT ainsi que des traces d'heptachlor. En revanche on ne retrouve pas les PCB (trop hydrophobes).

Les triazines trouvées dans le cas du prélèvement ponctuel sont retrouvées dans la fraction 1 mais on trouve également des composés supplémentaires comme la terbuthylazine, la prométhryn, la terbuthryn ainsi que la desisopropyl-atrazine.

Enfin on retrouve le diuron mais aussi les autres phényl-urées (chlorotoluron, isoproturon, metoxuron, linuron, chlorsulfuron, nicosulfuron) majoritairement dans la fraction 1 avec un composé particulièrement abondant qui est le nicosulfuron.

Biotests

Les blancs sont tous négatifs. Les optimisations de protocoles ont donc bien éliminé le problème d'artéfact. Aucune activité androgénique n'a été détectée. Les résultats concernant l'activité oestrogénique sont présentés Figure 5. La fraction POC-25 (POCIS Nérac Dichlorométhane ou encore Fraction 1) est clairement oestrogénique (environ de l'ordre de 10-20 ng E2-Eq / L dans le milieu de culture soit 200 fois plus dans l'extrait). On retrouve dans cette fraction la majorité des composés notamment les alkylphénols ainsi que les pesticides. Ce résultat est très intéressant puisque notamment en novembre 2006 les extraits s'étaient révélés inactifs vis-à-vis de cette activité oestrogénique. Ce qui différencie fondamentalement les deux expérimentations est la présence non négligeable de pesticides en avril-mai 2007. Cette activité pourrait être imputée aux pesticides mais il faudrait des travaux supplémentaires pour confirmer ce premier résultat.

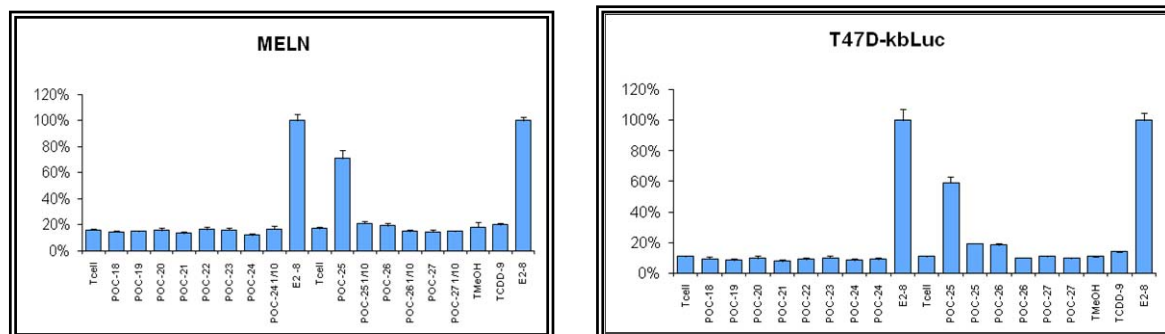


Figure 6 : Activité oestrogénique des extraits POCIS de Nérac (mai 2007).

Les fractions POC-25 (F1 : POCIS Nérac CH₂Cl₂) et 26 (F2 : POCIS Nérac MeOH/CH₂Cl₂) (Tableau 3) contiennent des inducteurs d'EROD de type HAP. On retrouve bien les HAP en F1 ; en revanche l'origine de l'induction en F2 est encore inconnue. Ainsi les HAP bien que très peu présents (quelques ng/L dans les prélèvements ponctuels) peuvent être détectés et montrent une activité non négligeables vis-à-vis des tests AhR.

Echantillon	T47D-kbLuc		MELN		PLHC-1 4h		PLHC-1 24h	
	EROD (% TCDD max)		EROD (% TCDD max)		EROD (% TCDD max)		EROD (% TCDD max)	
Tcell	7%	±0%	14%	±3%	0,5%	±0,2%	0,3%	±0,0%
POC-18 (Blanc CH ₂ Cl ₂ 10ml)	5%	±3%	9%	±2%	5,3%	±1,1%	0,1%	±0,1%
POC-19 (Blanc MeOH/CH ₂ Cl ₂ 10ml)	5%	±4%	9%	±4%	7,8%	±1,6%	0,2%	±0,2%
POC-20 (Blanc MeOH 10ml)	2%	±4%	7%	±3%	0,6%	±0,1%	0,3%	±0,1%
POC-21 (Blanc MeOH 200µl)	4%	±2%	7%	±3%	0,5%	±0,2%	0,0%	±0,0%
POC-22 (POCIS Blanc CH ₂ Cl ₂)	3%	±1%	8%	±2%	1,3%	±0,5%	0,3%	±0,3%
POC-23 (POCIS Blanc MeOH/CH)	3%	±4%	9%	±3%	1,5%	±0,2%	0,2%	±0,1%
POC-24 (POCIS Blanc MeOH/CH ₂ Cl ₂)	4%	±3%	16%	±5%	0,5%	±0,4%	0,0%	±0,2%
POC-24 1/10	4%	±2%	16%	±2%				
E2 -8	13%	±4%	6%	±1%				
Tcell	10%	±1%	16%	±4%	0,7%	±0,3%	0,3%	±0,1%
POC-25 (POCIS Nérac CH₂Cl₂)	21%	±3%	33%	±4%	23,3%	±0,8%	1,1%	±0,2%
POC-25 1/10	7%	±3%	10%	±5%	1,1%	±0,3%	0,1%	±0,1%
POC-26 (POCIS Nérac MeOH/CH₂Cl₂)	23%	±3%	64%	±2%	9,7%	±0,8%	0,4%	±0,4%
POC-26 1/10	6%	±1%	11%	±4%	0,6%	±0,5%	0,0%	±0,0%
POC-27 (POCIS Nérac MeOH)	5%	±1%	14%	±4%	0,5%	±0,5%	0,2%	±0,2%
POC-27 1/10	5%	±2%	12%	±2%	0,4%	±0,4%	0,0%	±0,1%
TMeOH	8%	±4%	17%	±4%	0,6%	±0,6%	0,5%	±0,1%
TCDD-9	100%	±7%	100%	±12%	100%	±2,0%	100%	±2,6%
E2 -8	11%	±3%	9%	±0%				

Tableau 3 : Activité AhR des extraits POCIS de Nérac (mai 2007).

V- Conclusion

En conclusion cette étude prospective de faisabilité a permis d'initier le développement d'une méthodologie combinant l'approche TIE et l'utilisation des capteurs passifs pour le screening de la contamination de la phase dissoute de la colonne d'eau dans le cas d'eaux de surface a priori assez diluées (Garonne et Baise).

Des optimisations méthodologiques ont été conduites et ont abouti à la mise en place d'un plan expérimental opérationnel pour l'utilisation des POCIS comme outils d'échantillonnage de la phase dissoute pour la caractérisation de la contamination chimique et de la toxicité potentiel associée. Ce plan expérimental opérationnel a été appliqué à un cas d'étude : Nérac.

Les capteurs passifs se sont révélés très intéressants puisqu'ils ont permis de mettre en évidence des molécules qui n'ont pas été détectées lors des prélèvements ponctuels du fait de limites de détection trop élevées ceci grâce au facteur d'accumulation mais aussi grâce à la simplicité de la matrice analysée. C'est le cas notamment des pesticides de la famille des triazines et des phényl-urées. C'est aussi le cas des HAP de haut poids moléculaire en phase dissoute. Pour le moment du fait du manque de travaux en laboratoire pour calculer les taux d'échantillonnage il n'est pas possible d'avoir une information quantitative sur ces composés néanmoins l'approche qualitative s'est révélée riche d'informations.

En parallèle l'utilisation de biotests sur les extraits organiques des POCIS a démontré la présence de composés à activité oestrogénique et de type AhR en quantités non négligeables. Le premier couplage des méthodologies chimiques et biologiques laisse à penser que les composés responsables de ces activités sont dans le premier cas les alkylphénols et les pesticides et dans le second cas les HAP bien que dans tous les cas les premières analyses ont montré des teneurs assez faibles pour ces composés (en tout cas pour les composés ciblés).

Ces premiers résultats montrent la puissance des biotests dans la mise en évidence d'une activité (voire toxicité) potentielle et montrent qu'ils pourraient servir d'alerteur. Ils montrent également l'intérêt du couplage biotests avec les capteurs passifs capables de concentrer des composés non détectés autrement (concentration de l'espèce chimique et donc concentration de l'effet relié).

Il est malgré tout évident que ce n'est qu'une étude préliminaire qui demande des travaux complémentaires pour être validée et pour démontrer de façon définitive l'intérêt de ces nouveaux outils notamment d'un point de vue quantitatif. De nombreux essais en laboratoire (taux d'échantillonnage) sont nécessaires ainsi que des expérimentations plus poussées de fractionnement utilisant la chromatographie en phase liquide haute performance pour aller plus loin dans le lien structure/activité au niveau moléculaire.

Références

Balaguer, P., François, F., Comunale, F., Fenet, H., Boussioux, A.-M., Pons, M., Nicolas, J.-C., Casellas, C. (1999)

Reporter cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens.
Sci. Tot. Environ., 233, 47-56.

Baumard P. (1997)

Biogéochimie des composés aromatiques dans l'environnement marin.
Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°1788.

Benfenati E., Barcelo D., Johnson I., Galassi S., Levsen K. (2003)

Emerging organic contaminants in leachates from industrial waste landfills and industrial effluent.
Trends Anal. Chem., 22, 757-765.

Bobeldijk I., Stoks P.G.M., Vissers J.P.C., Emke E., van Leerdam J.A., Muilwijk B., Berbee R., Noij T.H.M. (2002)

Surface and wastewater quality monitoring: combination of liquid chromatography with (geno)toxicity detection, diode array detection and tandem mass spectrometry for identification of pollutants.
J. Chrom. A, 970, 167-181.

Cargouet M., Perdiz D., Mouatassim-Souali A., Tamisier-Karolak S., Levi Y. (2004)

Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France).
Sci. Tot. Environ., 324, 55-66.

Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A., Parrella A., (2003)

Toxicity identification evaluation of leachates from municipal solid waste landfills: a multispecies approach.
Chemosphere, 52, 85-94.

Janssen C.R., Vangheluwe M., Van Sprang P. (2000)

A brief and critical evaluation of the status of microbiotests, In New microbiotests for routine toxicity testing and biomonitoring.
G. Persoone, C Janssen and W. de Coen, Eds., 27-37.

Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Petty J.D., Huckins J.N., Alvarez D. (2004)

A hostile passive integrative sampling approach for assessing the presence and potential impact of waterborne environmental contaminants.
Chemosphere, 54, 695-705.

Labadie P. (2004)

Détermination des stéroïdes hormonaux dans l'environnement : développements analytiques et applications.
Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°2884.

Letellier M. (1998)

Extraction assistée par rayonnement micro-ondes de contaminants organiques dans l'environnement.
Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°1957.

Mazéas L. (2000)

Etude de l'origine et du devenir des hydrocarbures dans le milieu marin : approches moléculaires et isotopique- application aux pollutions pétrolières.
Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°2294.

Mazéas O. (2005)

Evaluation de l'exposition des organismes aux HAP dans le milieu marin par le dosage des métabolites de HAP - Cas de la marée noire Erika.
Thèse d'université, Université Bordeaux I, n° 2945.

Norberg-King, T.J. et. al. (1991)

Toxicity identification evaluation: characterization of chronically toxic toxic effluents, phase I. EPA/600/6-91/005F. ERL, USEPA, Duluth, MN.

Perraudin E. (2004)

Réactivité des HAP adsorbés sur des particules modèles d'intérêt atmosphérique : mesures cinétiques, développements analytiques et analyse des produits d'oxydation.
Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°2919.

Pessala P., Schultz E., Nakari T., Joutti A., Herve S. (2004)

Evaluation of wastewater effluents by small-scale biotests and a fractionation procedure.
Ecotoxicol. Environ. Safety, 59, 263-272.

Ryan J. A. et Hightower L. E. (1994)

Evaluation of heavy-metal ion toxicity in fish cells using a combined stress protein and cytotoxicity assay.
Environ. Toxicol. Chem., 13, 1231-1240.

Tapie N. (2006)

Etude des relations entre persistance, bioaccumulation et effets à long terme des contaminants chimiques en milieu marin.

Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°3325.

Thomas K.V., Balaam J., Barnard N., Dyer R., Jones C., Lavender J., McHugh M. (2002)

Characterisation of potentially genotoxic compounds in sediments collected from United Kingdom estuaries.
Chemosphere, 49, 247-258.

Togola A. (2006)

Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques

Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°3314.

Thompson Sara (1999)

Détermination des composés aromatiques et organochlorés dans l'environnement marin.

Thèse d'université, Université Bordeaux I, n°2083.

Togola A., Budzinski H. (2007)

Development of Polar Organic Integrative Samplers for Analysis of Pharmaceuticals in Aquatic Systems.
Anal. Chem. 79, 6734-6741.

Vrana B., Mills G.A., Allan I.J., Dominiak E., Svensson K., Knutsson J., Morrison G., Greenwood R. (2005)

Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water.

Trends in Analytical Chemistry, 24, 845-868.

Wilson, V. S., Bobseine, K., Lambright, C. R. and Gray, L. E. (2002)

A novel cell line, MDA-kb2, that stably expresses an androgen- and glucocorticoid-responsive reporter for the detection of hormone receptor agonists and antagonists.

Toxicol. Sci., 66, 69-81.

Annexes

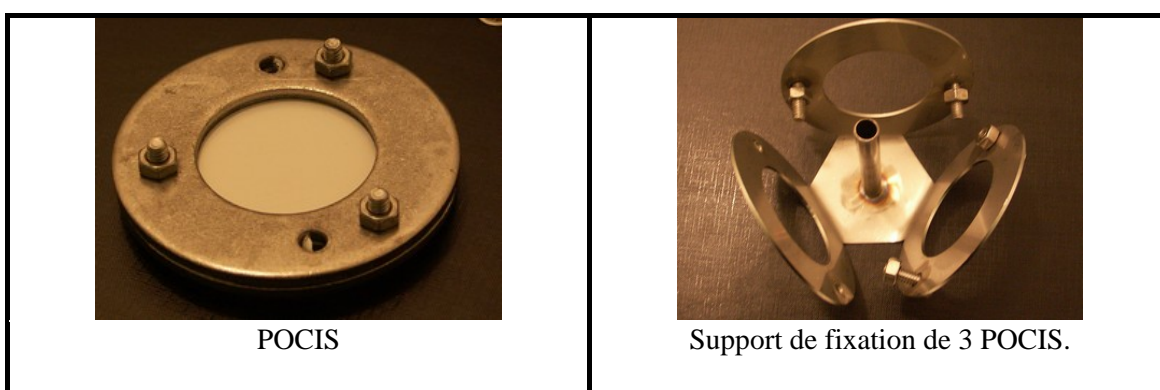
Annexe 1 - Liste Echantillons

Code échantillon	Date prélèvement	Lieu prélèvement	Type échantillon	Remarques
Eau-Nérac 11/06	novembre 2006	Nérac	eau de surface	
Eau-Portest 11/06	novembre 2006	Portets	eau de surface	
POCIS-Nérac 11/06	novembre 2006	Nérac	échantillonneur passif POCIS	Dépôt des POCIS pendant 4 semaines : du 16/10/06 au 13/11/06
POCIS-Portest 11/06	novembre 2006	Portets	échantillonneur passif POCIS	
Eau-Nérac 05/07	09 mai 2007	Nérac	eau de surface	
Eau-Portest 05/07	09 mai 2007	Portets	eau de surface	
POCIS-Nérac 05/07	09 mai 2007	Nérac	échantillonneur passif POCIS	Dépôt des POCIS pendant 5 semaines du 04/04/07 au 09/05/07
POCIS-Portest 05/07	09 mai 2007	Portets	échantillonneur passif POCIS	Perte des POCIS : membranes éclatées à cause du courant d'eau trop fort

Annexe 2 - Méthodologie de déploiement des POCIS sur le terrain

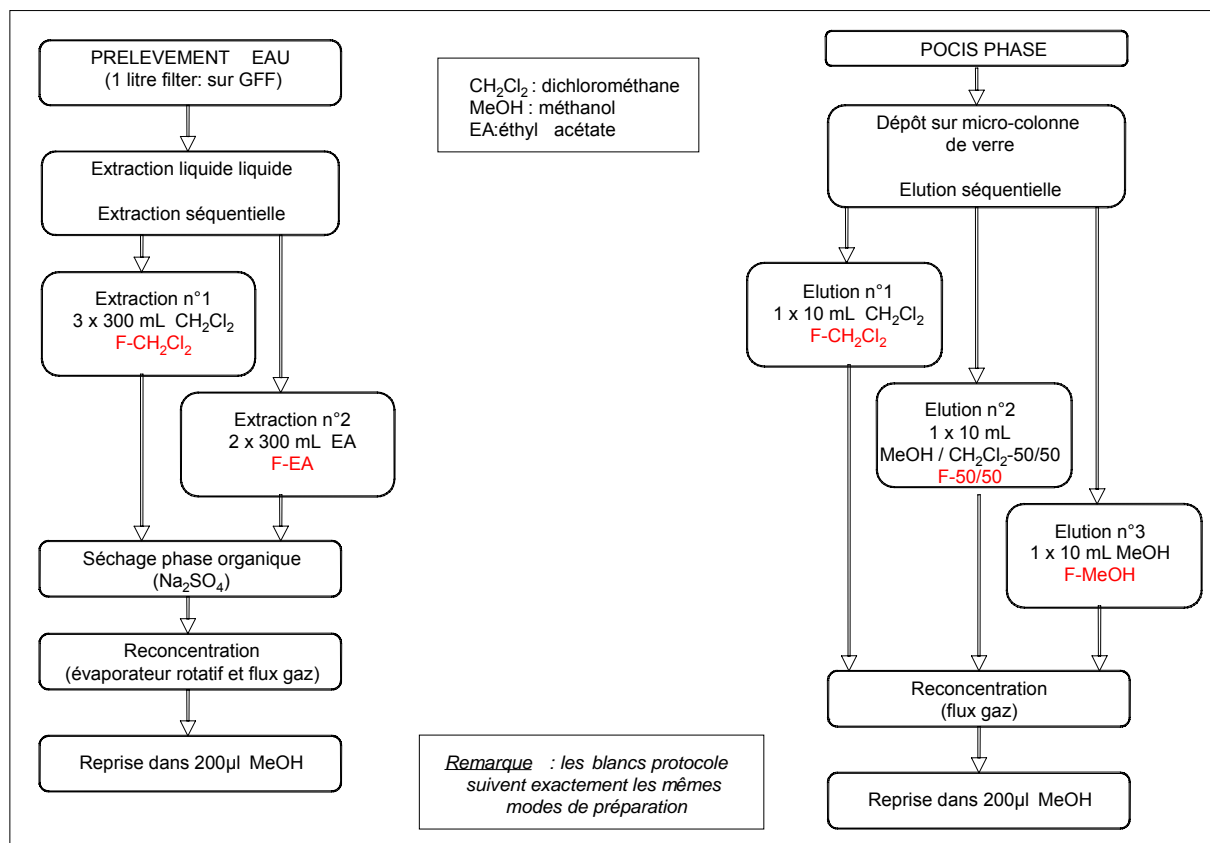
Les POCIS sont fournies par Exposmeter (Suède), société dépositaire pour l'Europe du brevet déposé par l'USGS (United States Geological Survey). Les POCIS sont fournies serties et prêtes à l'emploi, elles sont stockées au congélateur à -20°C en attente de leur déploiement sur le terrain.

Une fois sur le terrain les POCIS sont fixées sur les supports permettant une exposition en triplicat. Les supports sont placés à l'intérieur d'une cage protectrice qui limite le dépôt de macro-débris sur le dispositif et permet de fixer l'ensemble et d'assurer ainsi son immersion pendant la période d'exposition.



A la fin de la période d'exposition dans le milieu, les cages sont récupérées. Les POCIS sont dévissées des supports, rincée à l'eau osmosée pour éliminer les particules et débris éventuellement fixés sur les membranes. Les POCIS sont ensuite emballées dans du papier aluminium puis stockées en attente d'analyse à -20°C.

Annexe 3 - Méthodologie de préparation de fractions organiques de polarité différentes



Annexe 4 - Echantillons pour Biotests Novembre 2006 (EAUX)

EXTRAITS ORGANIQUES EAUX : EXTRACTION SEQUENTIELLE ET BLANCS PROTOCOLE			
ECHANTILLON	EXTRAIT	Descriptif	Codification flacon
BLANC SOLVANTS	BLANC CH ₂ Cl ₂	blanc solvant 3 x 300 mL CH ₂ Cl ₂ reconcentré à sec et repris dans 200 µl MeOH	Blanc manip DCM 14/11/06 (Eau 1)
	BLANC ETHYL ACETATE	blanc solvant 2 x 300 mL Ethyl Acétate reconcentré à sec et repris dans 200 µl MeOH	Blanc manip ethyl acétate 14/11/06 (Eau 2)
NERAC EAUX	EAU NERAC CH ₂ Cl ₂	EAU NERAC Fraction extraite avec 3x 300 mL CH ₂ Cl ₂ évaporée à sec et repris dans 200 µl MeOH	NERAC DCM 14/11/06 (Eau 3)
	EAU NERAC Ethyl Acétate	EAU NERAC Fraction extraite avec 2x 300 mL Ethyl Acétate, évaporée à sec et repris dans 200 µl MeOH	NERAC Ethyl Acetate 14/11/06 (Eau 4)
PORTETS EAUX	EAU PORTETS CH ₂ Cl ₂	EAU PORTETS Fraction extraite avec 3x 300 mL CH ₂ Cl ₂ évaporée à sec et repris dans 200 µl MeOH	PORTETS DCM 14/11/06 (Eau 5)
	EAU PORTETS Ethyl Acétate	EAU PORTETS Fraction extraite avec 2x 300 mL Ethyl Acétate, évaporée à sec et repris dans 200 µl MeOH	PORTETS Ethyl Acétate 14/11/06 (Eau 6)

Annexe 5 - Echantillons pour Biotests Novembre 2006 (POCIS)

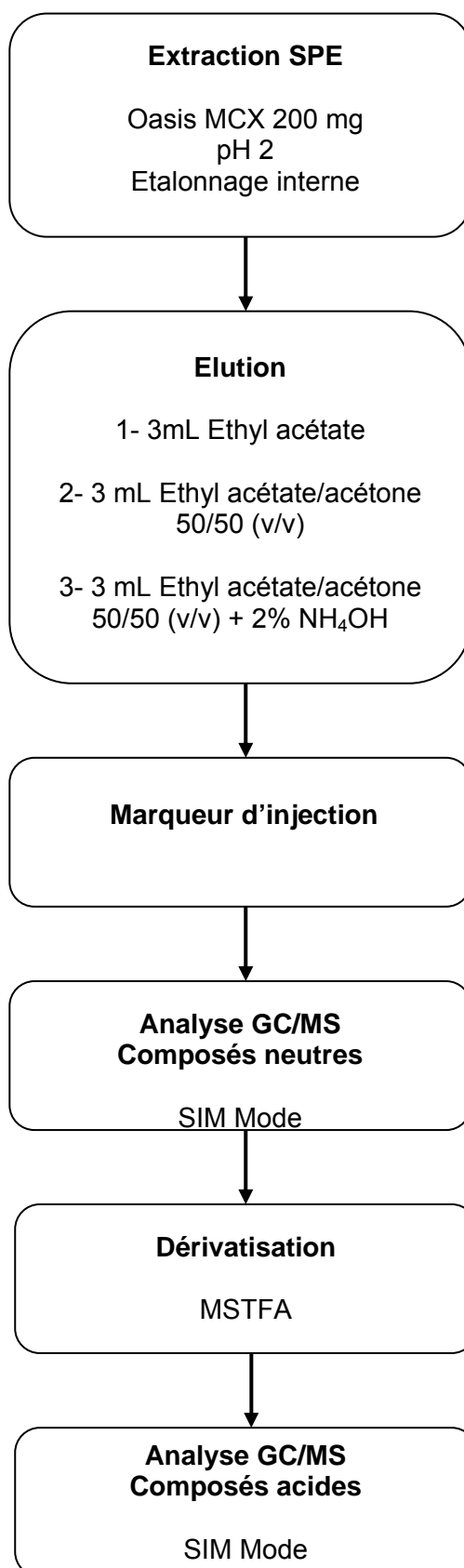
EXTRAITS ORGANIQUES POCIS : ELUTION SEQUENTIELLE ET BLANCS PROTOCOLE			
Echantillon	Extrait	Descriptif	Codification flacon
BLANC SOLVANTS	BLANC CH ₂ Cl ₂ 10 mL	blanc solvant 10 mL CH ₂ Cl ₂ reconcentré à sec et repris dans 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/F-CH ₂ Cl ₂ 05-03-07 (POC 1)
	BLANC 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ 10 mL	blanc solvant 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ reconcentré à sec et repris dans 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/F-5050 05-03-07 (POC 2)
	BLANC MeOH 10 mL	blanc solvant 10 mL MeOH reconcentré à sec et repris dans 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/F-MeOH 05-03-07 (POC 3)
	BLANC MeOH 200 µL	blanc solvant 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/MeOH (POC 4)
POCIS BLANC	POCIS BLANC CH ₂ Cl ₂	POCIS BLANC Fraction éluée avec 10 mL CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/BLANC/F-CH ₂ Cl ₂ 05-03-07 (POC 5)
	POCIS BLANC 50/50	POCIS BLANC Fraction éluée avec 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/BLANC/F-5050 05-03-07 (POC 6)
	POCIS BLANC MeOH	POCIS BLANC Fraction éluée avec 10 mL MeOH, évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/BLANC/F-MeOH 05-03-07 (POC 7)
NERAC POCIS	POCIS NERAC CH ₂ Cl ₂	POCIS NERAC Fraction éluée avec 10 mL CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/NERAC/F-CH ₂ Cl ₂ 05-03-07 (POC 8)
	POCIS NERAC 50/50	POCIS NERAC Fraction éluée avec 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/NERAC/F-5050 05-03-07 (POC 9)
	POCIS NERAC MeOH	POCIS NERAC Fraction éluée avec 10 mL MeOH, évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/NERAC/F-MeOH 05-03-07 (POC 10)
PORTETS POCIS	POCIS PORTETS CH ₂ Cl ₂	POCIS PORTETS Fraction éluée avec 10 mL CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/PORTETS/F-CH ₂ Cl ₂ 05-03-07 (POC 11)
	POCIS PORTETS 50/50	POCIS PORTETS Fraction éluée avec 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/PORTETS/F-5050 05-03-07 (POC 12)
	POCIS PORTETS MeOH	POCIS PORTETS Fraction éluée avec 10 mL MeOH, évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/PORTETS/F-MeOH 05-03-07 (POC 13)

Annexe 6 - Echantillons pour Biotests Mai 2007

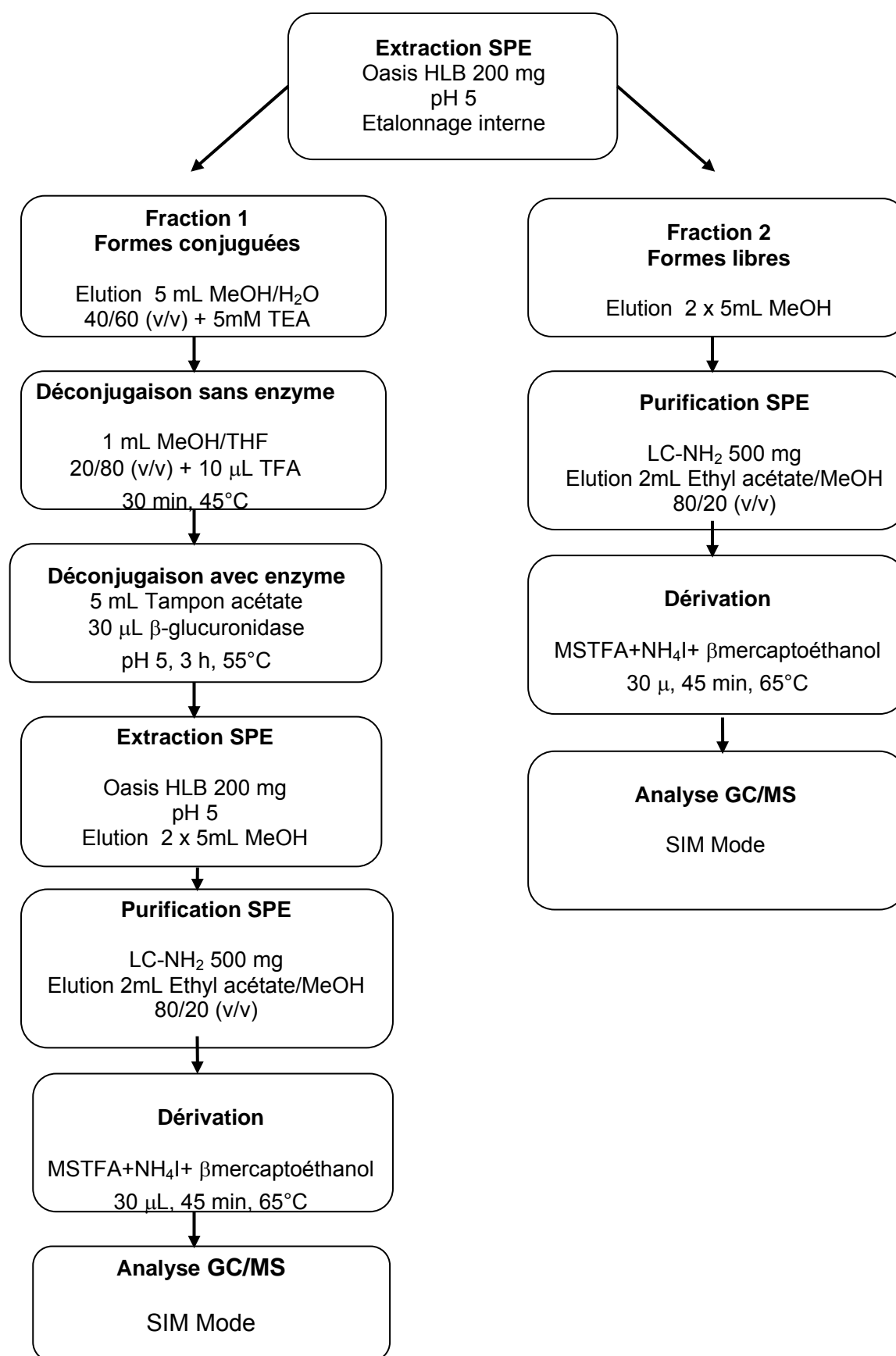
EXTRAITS ORGANIQUES POCIS : ELUTION SEQUENTIELLE ET BLANCS PROTOCOLE			
Echantillon	Extrait	Descriptif	Codification flacon
BLANC SOLVANTS	BLANC CH ₂ Cl ₂ 10 mL	blanc solvant 10 mL CH ₂ Cl ₂ reconcentré à sec et repris dans 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/10ML-CH ₂ Cl ₂ 20-06-07 (POC 18)
	BLANC 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ 10 mL	blanc solvant 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ reconcentré à sec et repris dans 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/10ML-5050 20-06-07 (POC 19)
	BLANC MeOH 10 mL	blanc solvant 10 mL MeOH reconcentré à sec et repris dans 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/10ML-MeOH 20-06-07 (POC 20)
	BLANC MeOH 200 µL	blanc solvant 200 µL MeOH	BLC/SOLVANT/200YL-MeOH 20-06-07 (POC 21)
POCIS BLANC	POCIS BLANC CH ₂ Cl ₂	POCIS BLANC Fraction éluée avec 10 mL CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/BLANC/F-CH ₂ Cl ₂ 20-06-07 (POC 22)
	POCIS BLANC 50/50	POCIS BLANC Fraction éluée avec 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/BLANC/F-5050 20-06-07 (POC 23)
	POCIS BLANC MeOH	POCIS BLANC Fraction éluée avec 10 mL MeOH, évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/BLANC/F-MeOH 20-06-07 (POC 24)
NERAC POCIS DU 09-05-07	POCIS NERAC CH ₂ Cl ₂	POCIS NERAC Fraction éluée avec 10 mL CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/NERAC/F-CH ₂ Cl ₂ 20-06-07 (POC 25)
	POCIS NERAC 50/50	POCIS NERAC Fraction éluée avec 10 mL mélange 50/50 MeOH/CH ₂ Cl ₂ , évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/NERAC/F-5050 20-06-07 (POC 26)
	POCIS NERAC MeOH	POCIS NERAC Fraction éluée avec 10 mL MeOH, évaporée à sec et repris dans 200 µL MeOH	POCIS/NERAC/F-MeOH 20-06-07 (POC 27)

Annexe 7 - Protocole d'analyse des échantillons

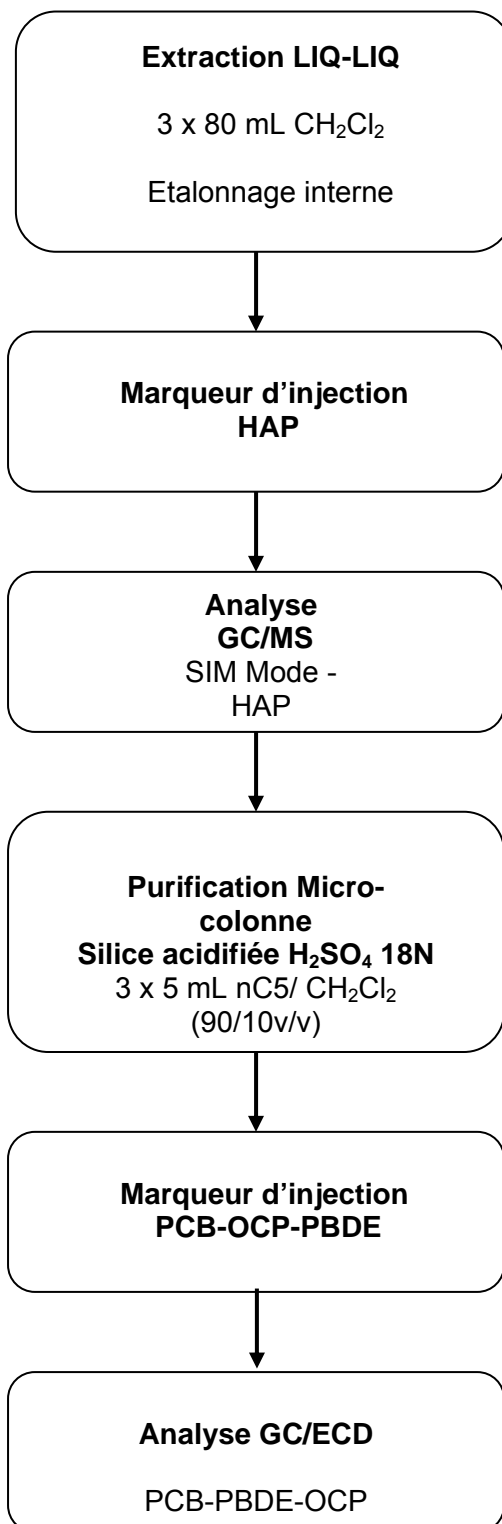
**PROTOCOLE ANALYTIQUE - DOSAGE DES PHARMACEUTIQUES
PHASE DISSOUTE**



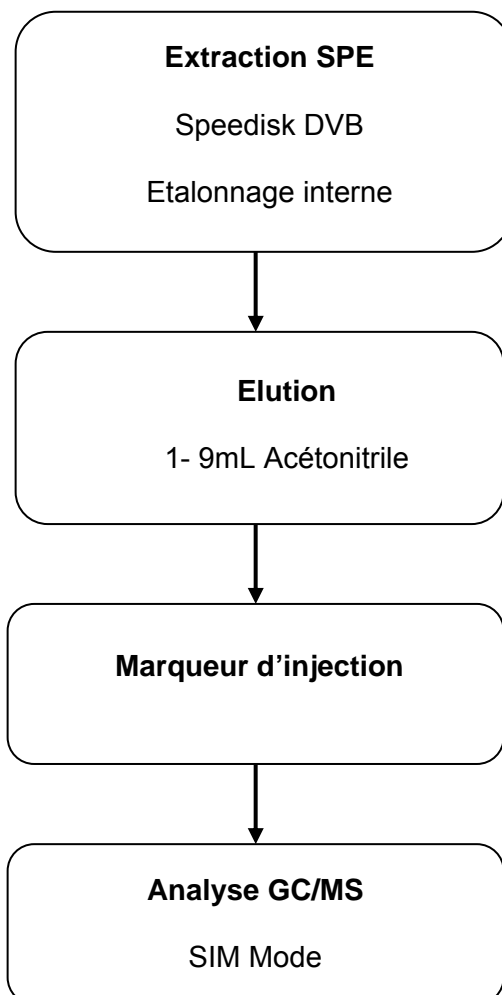
**PROTOCOLE ANALYTIQUE - DOSAGE DES STEROÏDES
PHASE DISSOUE**



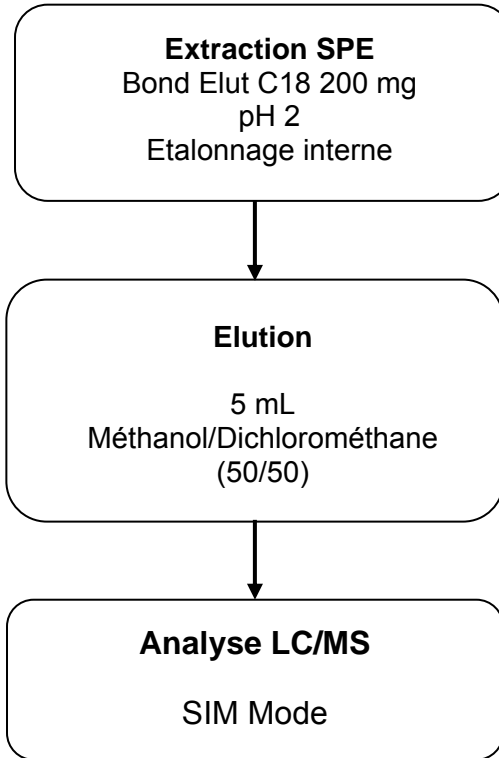
**PROTOCOLE ANALYTIQUE - DOSAGE DES POLYCHLOROBIPHENYLS,
DES POLYBROMODIPHENYLETHER, DES PESTICIDES
ORGANOCHLORES
ET DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES
PHASE DISSOUE**



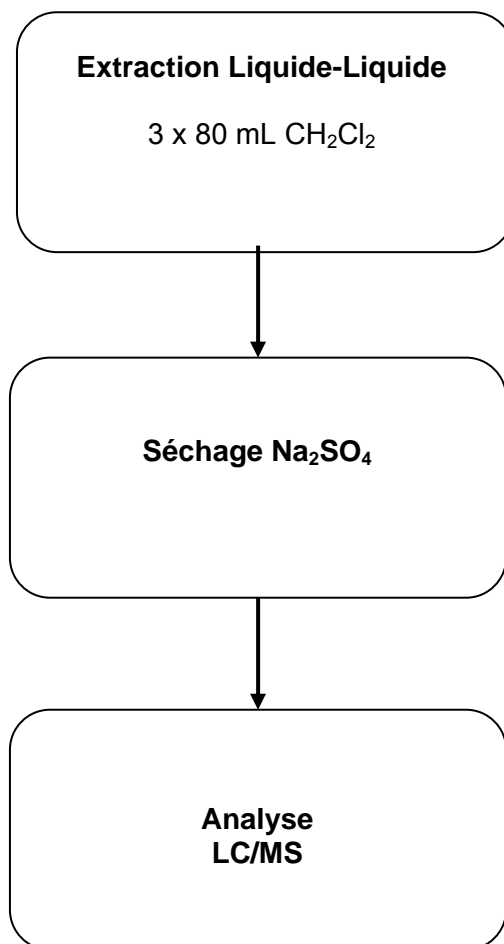
**PROTOCOLE ANALYTIQUE
DOSAGE DES PESTICIDES TRIAZINES
PHASE DISSOUE**



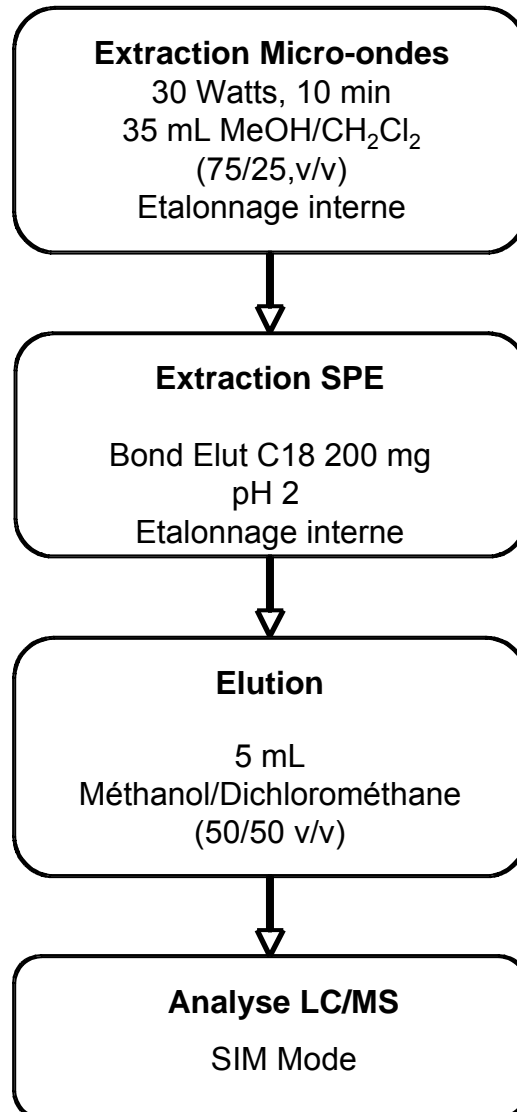
**PROTOCOLE ANALYTIQUE - DOSAGE DES
ALKYLPHENOLS
PHASE DISSOUE**



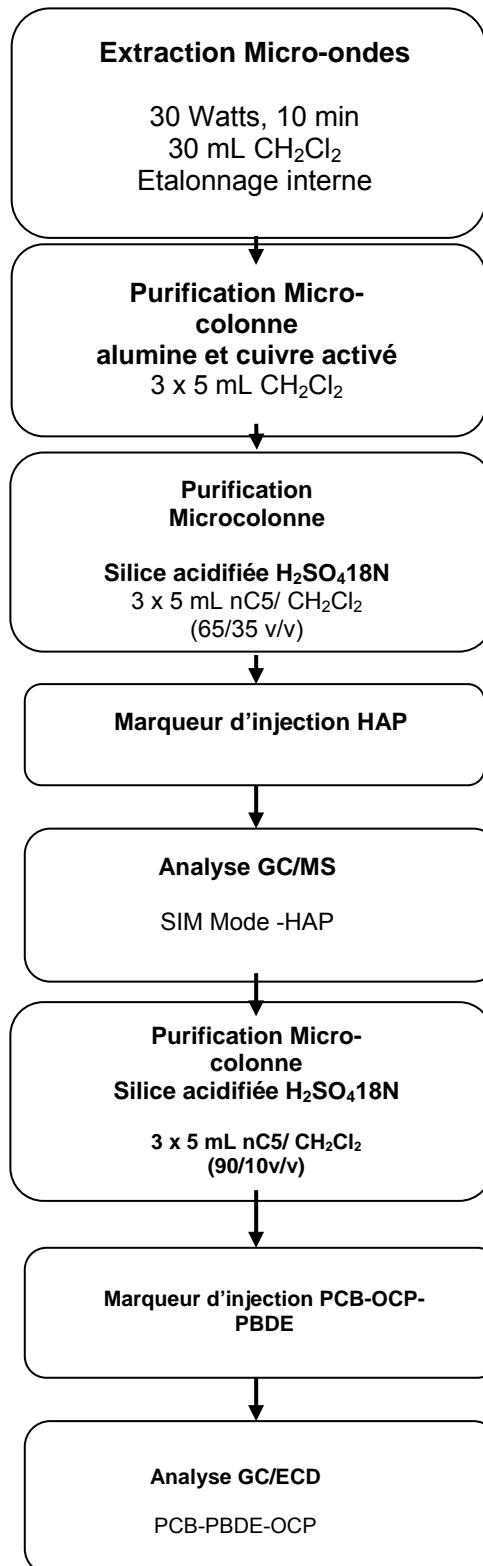
**PROTOCOLE ANALYTIQUE - DOSAGE DIURON
PHASE DISSOUE**



**PROTOCOLE ANALYTIQUE
DOSAGE DES ALKYLPHENOLS
PHASE PARTICULAIRE**



PROTOCOLE ANALYTIQUE
DOSAGE DES POLYCHLOROBIPHENYLS, POLYBROMODIPHENYLETHER,
PESTICIDES ORGANOCHLORES ET HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES
PHASE PARTICULAIRE



Annexe 8 - Condition d'analyse des échantillons

ANALYSES DES PHARMACEUTIQUES

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase gazeuse : Agilent Technologies 6890 SérieS

Injecteur	: Pulsed Splitless, 250°C
Volume injecté	: 1 µL
Temps de purge	: 1 min
Débit de purge	: 55,0 mL.min ⁻¹
Pression de pulse	: 30 psi
Temps de pulse	: 1 min
Gaz vecteur	: Hélium 6.0
Température de l'interface	: 280°C
Colonne	: HP-5MS (J&W Scientific) 5% Phenyl Methyl Siloxane 30 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,3 mL/min
Programme de température	: température initiale : 90°C pd 2 min 1 ^{ère} rampe : 5°C.min ⁻¹ jusqu'à 250°C pd 5 min

- Spectromètre de masse : Agilent Technologies MSD 5973

Ionisation par impact électronique	: 70eV
Température de la source	: 230°C
Température du quadripole	: 150°C
Mode de détection	: Single Ion monitoring (SIM)

Composés natifs	Abréviation	Ion de quantification (m/z)	Etalon interne
Cafféine	CAF	194	DZ-d5
Carbamazepine	CARBA	193	DZ-d5
Diazepam	DZ	256	DZ-d5
Amitriptyline	AMI	58	AMI-d6
Imipramine	IMI	234	AMI-d6
Doxepine	DOX	58	AMI-d6
Nordiazepam	NDZ	242	NDZ-d5

Composés natifs	Abréviation	Ion de quantification (m/z)	Etalon interne
Aspirine	ASP	267-197	DZ-d5
Ibuprofene	IBU	160-263	DZ-d5
Paracetamol	PARA	206-280	DZ-d5
Gemfibrozil	GEM	201-73	DZ-d5
Terbutaline	TERBU	356-86	DZ-d5
Salbutamol	SALBU	369-86	DZ-d5
Naproxen	NAPRO	185-243	DZ-d5
Clenbuterol	CLENBU	335-86	DZ-d5
Ketoprofene	KETO	282-311	DZ-d5
Diclofenac	DICLO	214-242	DZ-d5

Composés étalons internes	Abréviation	Ion de quantification (m/z)
Diazepam	DZ-d5	261
Amitriptyline	AMI-d6	64
Nordiazepam	NDZ-d5	247
Pyrene-d10 (marqueur injection)	PYR-d10	212
1-OHPyrene	1OHPyr	290

ANALYSES DES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP)

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase gazeuse : Agilent Technologies 6890 Séries

Injecteur	: Pulsed Splitless, 270°C
Volume injecté	: 1 µL
Temps de purge	: 1 min
Débit de purge	: 60,4 mL.min ⁻¹
Pression de pulse	: 25 psi
Temps de pulse	: 1 min
Gaz vecteur	: Hélium 6.0
Température de l'interface	: 280°C
Colonne	: HP-5MS (J&W Scientific) 5% Phenyl Methyl Siloxane 30 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,3 mL/min
Programme de température	: température initiale : 70°C pd 2 min 1 ^{ère} rampe : 5°C.min ⁻¹ jusqu'à 330°C pd 5 min

- Spectromètre de masse : Agilent Technologies MSD 5973

Ionisation par impact électronique	: 70eV
Température de la source	: 230°C
Température du quadripole	: 150°C
Mode de détection	: Single Ion monitoring (SIM)

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
Naphtalène	N	128	N-d8
Méthyl-naphtalènes	MN	142	N-d8
Diméthyl-naphtalènes	DMN	156	N-d8
Triméthyl-naphtalènes	TMN	170	N-d8
Tétraméthyl-naphtalènes	TeMN	184	N-d8
Acenaphène	Ace	152	P-d10
Acénaphthylène	Acy	154	P-d10
Fluorène	F	166	P-d10
Dibenzothiophène	DBT	184	DBT-d8
Méthyl-dibenzothiophène	MDBT	198	DBT-d8
Phénanthrène	P	178	P-d10
Antracène	An	178	An-d10
Méthyl-phénanthrènes	MP	192	P-d10
Diméthyl-phénanthrènes	DMP	206	P-d10
Triméthyl-phénanthrènes	TMP	220	P-d10
Fluoranthène	Fluo	202	Fluo-d10
Pyrène	Pyr	202	Fluo-d10
Benzo(a)Anthracène	BaA	228	Chrys-d12
Chrysène + Triphénylène	Chrys + Triph	228	Chrys-d12
Méthyl-chrysènes	MChrys	242	Chrys-d12
2,1-benzonaphthothiophène	2,1-BNT	234	Chrys-d12
Benzo(b,j,k)fluoranthène	BbF+BjF+BkF	252	BeP-d12
Benzo(e)pyrène	BeP	252	BeP-d12
Benzo(a)pyrène	BaP	252	BaP-d12
Pérylène	Per	252	BeP-d12
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	IP	276	BP-d12
Dibenzo(a,h)+(a,c)anthracène	DacA+DahA	278	BP-d12
Benzo(g,h,i)perylène	BP	276	BP-d12

<i>Composés étalons internes</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>
Naphtalène-d8	N-d8	136
Dibenzothiophène-d8	DBT-d8	192
Phénanthrène-d10	P-d10	188
Antracène-d10	An-d10	188
Fluoranthène-d12	Fluo-d10	212
Pyrène-d12 (marqueur injection)	Pyr-d10	212
Benzo(b)fluoranthène-d12 (marqueur injection)	BbF-d12	264
Benzo(e)pyrène-d12	BeP-d12	264
Benzo(a)pyrène-d12	BaP-d12	264
Benzo(g,h,i)pérylène-d12	BP-d12	288

ANALYSES DES STEROIDES

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase gazeuse : Agilent Technologies 6890 Séries

Injecteur	: Pulsed Splitless, 250°C
Volume injecté	: 2 µL
Temps de purge	: 1,5 min
Débit de purge	: 60,0 mL.min ⁻¹
Pression de pulse	: 25 psi
Temps de pulse	: 1,5 min
Gaz vecteur	: Hélium 5.6
Température de l'interface	: 280°C
Colonne	: HP-5MS (J&W Scientific) 5% Phenyl Methyl Siloxane 30 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,3 mL/min
Programme de température	: température initiale : 90°C pd 1 min 1 ^{ère} rampe : 7,5°C.min ⁻¹ jusqu'à 290°C pd 5 min

- Spectromètre de masse: Agilent Technologies MSD 5973

Ionisation par impact électronique	: 70eV
Température de la source	: 230°C
Température du quadripole	: 150°C
Mode de détection	: Single Ion monitoring (SIM)

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Ion de confirmation (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
Oestrone	E1	414	399	E2-d4
17β-oestradiol	E2	416	285	E2-d4
Progestérone	Pg	458	443	T-d3
17&-éthynyloestradiol	EE2	425	440	EE2-d4
Mestranol	MeEE2	367	227	EE2-d4
Noréthindrone	No	442	287	T-d3
Lévonorgestrel	Dn	456	316	T-d3

<i>Composés étalons internes</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>
17β-oestradiol-d4	E2-d4	420
Testosterone-d3	T-d3	435
17&-éthynyloestradiol-d4	EE2-d4	429

ANALYSES DES TRIAZINES

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase gazeuse : Agilent Technologies 6890 Séries

Injecteur	: Pulsed Splitless, 250°C
Volume injecté	: 1 µL
Temps de purge	: 1,0 min
Débit de purge	: 60,0 mL.min ⁻¹
Pression de pulse	: 25 psi
Temps de pulse	: 1,5 min
Gaz vecteur	: Hélium 5.6
Température de l'interface	: 280°C
Colonne	: Rxi-5MS (Restek) : 5% Phenyl Methyl Siloxane : 30 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,1 mL/min
Programme de température	: température initiale : 50°C pd 1 min : 1 ^{ère} rampe : 5°C.min ⁻¹ jusqu'à 230°C pd 1 min : 2 ^{ième} rampe : 20°C.min ⁻¹ jusqu'à 300°C pd 5 min

- Spectromètre de masse: Agilent Technologies MSD 5973

Ionisation par impact électronique	: 70eV
Température de la source	: 230°C
Température du quadripole	: 150°C
Mode de détection	: Single Ion monitoring (SIM)

<i>Composé</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Ion n°1 de confirmation (m/z)</i>	<i>Ion n°2 de confirmation (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
Atrazine désisopropyl	173	158	145	Simazine d10
Atrazine déséthyl	172	187	145	Atrazine d5
Simazine	201	186	173	Simazine d10
Atrazine	200	215	173	Atrazine d5
Cyromazine	151	166	-	Atrazine d5
Propazine	214	229	172	Terbutylazine d5
Terbutylazine	214	173	229	Terbutylazine d5
Promethryn	241	184	226	Simazine d10
Terbuthryn	226	185	241	Simazine d10
Cyanazine	212	68	-	Simazine d10
Irgarol	182	253	238	Simazine d10
Pymetrozine	98	106	132	Simazine d10

<i>Composé étalon interne</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Ion n°1 de confirmation (m/z)</i>	<i>Ion n°2 de confirmation (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
Atrazine d5	205	220	-	Benzo(h)Quinoline
Simazine d10	211	193	179	Benzo(h)Quinoline
Terbutylazine d5	219	178	234	Benzo(h)Quinoline
Benzo(h)Quinoline	179	151		

ANALYSES DES PYRETHRINOÏDES

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase gazeuse : Agilent Technologies 6890 SérieS

Injecteur	: Pulsed Splitless, 250°C
Volume injecté	: 1 µL
Temps de purge	: 1,0 min
Débit de purge	: 60,0 mL.min ⁻¹
Pression de pulse	: 25 psi
Temps de pulse	: 1,5 min
Gaz vecteur	: Hélium 5.6
Température de l'interface	: 280°C
Colonne	: Rxi-5MS (Restek) 5% Phenyl Methyl Siloxane 30 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,1 mL/min
Programme de température	: température initiale : 60°C pd 1 min 1 ^{ère} rampe : 25°C.min ⁻¹ jusqu'à 180°C pd 2 min 2 ^{ème} rampe : 5°C.min ⁻¹ jusqu'à 280°C pd 15 min

- Spectromètre de masse: Agilent Technologies MSD 5973

Ionisation par impact électronique	: 70eV
Température de la source	: 230°C
Température du quadripole	: 150°C
Mode de détection	: Single Ion monitoring (SIM)

<i>Composé</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Ion n°1 de confirmation (m/z)</i>	<i>Ion n°2 de confirmation (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
Bifenthrine	181	165	-	Cis-permethrine 13C6
Lambda-Cyhalothrine	181	197	141	Cis-permethrine 13C6
Acrinathrine	181	209	141	Cis-permethrine 13C6
Permethrine (2 isomères)	183	163	-	Cis-permethrine 13C6
Cyfluthrine (4 isomères)	163	226	206	Cis-permethrine 13C6
Cypermethrine (4 isomères)	163	181	209	Cis-permethrine 13C6
Fenvalerate (2 isomères)	125	167	419	Cis-permethrine 13C6
Tau-Fluvalinate (2 isomères)	250	-	-	Cis-permethrine 13C6
Esfenvalerate	125	167	419	Cis-permethrine 13C6
Deltamethrine	181	253	209	Cis-permethrine 13C6

<i>Composé étalon interne</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Ion n°1 de confirmation (m/z)</i>	<i>Ion n°2 de confirmation (m/z)</i>	<i>Etalon seringue</i>
Cis-permethrine 13C6	189	163	-	Benzo(h)Quinoline
Benzo(h)Quinoline	179	151	-	

ANALYSES DES ORGANOPHOSPHORÉS

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLÉE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase gazeuse : Agilent Technologies 6890 Série

Injecteur	: Pulsed Splitless, 250°C
Volume injecté	: 1 µL
Temps de purge	: 1,0 min
Débit de purge	: 60,0 mL.min ⁻¹
Pression de pulse	: 25 psi
Temps de pulse	: 1,5 min
Gaz vecteur	: Hélium 5.6
Température de l'interface	: 280°C
Colonne	: Rxi-5MS (Restek) 5% Phenyl Methyl Siloxane 30 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,3 mL/min
Programme de température	: température initiale : 50°C pd 2 min 1 ^{ère} rampe : 10°C.min ⁻¹ jusqu'à 300°C pd 15 min

- Spectromètre de masse: Agilent Technologies MSD 5973

Ionisation par impact électronique	: 70eV
Température de la source	: 230°C
Température du quadripole	: 150°C
Mode de détection	: Single Ion monitoring (SIM)

<i>Composé</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Ion n°1 de confirmation (m/z)</i>	<i>Ion n°2 de confirmation (m/z)</i>	<i>Composés étalons</i>
Dichlorvos	109	185	79	Gamme d'étalonnage externe
Mévinphos	127	109	192	
Chlormephos	97	121	234	
Trichlorfon	109	79	145	
Ethoprophos	158	97	139	
Phorate	75	97	260	
Dimethoate	87	125	-	
Fonofos	109	137	246	
Diazinon	137	179	304	
Parathion méthyl	263	200	-	
Chlorpyrifos méthyl	286	288	-	
Malaoxon	127	195	-	
Fénithrothion	125	109	277	
Malathion	125	173	93	
Fenthion	278	125	109	
Parathion éthyl	97	109	291	
Bromophos méthyl	331	125	213	
Isofenphos	58	213	121	
Chlorfenvinphos	267	323	81	
Bromophos éthyl	97	303	359	
Tetrachlorfenvinphos	109	329	-	
Phosmet	160	-	-	
Azinphos méthyl	132	160	77	
Azinphos éthyl	132	160	77	
Coumaphos	97	362	226	

**ANALYSES DES POLYCHLOROBIPHENYLS (PCB)
ET PESTICIDES ORGANOCHLORES (OCP)**

**CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A UN DETECTEUR A CAPTURE
D'ELECTRON**

- Chromatographe en phase gazeuse : Hewlett Packard 5890 Séries II

Injecteur	: Splitless, 280°C
Volume d'injection	: 1µL
Temps de purge	: 1 min
Débit de purge	: 60,5 mL.min ⁻¹
Gaz vecteur	: Hélium
Colonne	: HP-5MS (J&W Scientific) 5% Phenyl Methyl Siloxane 60 m x 0,25 mm diam x 0,25 µm d'épaisseur de phase
Débit du gaz vecteur	: 1,5 mL/min
Programme de température	: température initiale : 80°C pd 1 min 1 ^{ère} rampe : 10°C.min ⁻¹ jusqu'à 200°C pd 2 min 2 ^{ème} rampe : 2°C.min ⁻¹ jusqu'à 320°C pd 2 min

- Détecteur à capture d'électrons : Hewlett Packard 19233-60576

Source scellée radioactive	: ⁶³ Ni
Activité de la source	: 555 MBq
Température du détecteur	: 320°C
Gaz d'appoint	: Azote 5.0
Débit du gaz d'appoint	: 60 mL.m ⁻¹

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviations</i>	<i>Etalon interne</i>
2,4' dichlorobiphenyl	PCB 8	PCB 30
2,2',5 trichlorobiphenyl	PCB 18	PCB 30
2,4,4' trichlorobiphenyl	PCB 28	PCB 30
2,4,5 trichlorobiphenyl	PCB 29	PCB 30
2,2',3,5' tétrachlorobiphenyl	PCB 44	PCB 103
2,2',4,6 tétrachlorobiphenyl	PCB 50	PCB 30
2,2',5,5' tétrachlorobiphenyl	PCB 52	PCB 103
2,3',4,4' tétrachlorobiphenyl	PCB 66	PCB 103
3,3',4,4' tétrachlorobiphenyl	PCB 77	PCB 155
2,2',3,4,5' pentachlorobiphenyl	PCB 87	PCB 155
2,2',4,5,5' pentachlorobiphenyl	PCB 101	PCB 155
2,2',4,6,6' pentachlorobiphenyl	PCB 104	PCB 103
2,3,3',4,4' pentachlorobiphenyl	PCB 105	PCB 198
2,3,4,4',5 pentachlorobiphenyl	PCB 118	PCB 198
3,3',4,4',5 pentachlorobiphenyl	PCB 126	PCB 198
2,2',3,3',4,4' hexachlorobiphenyl	PCB 128	PCB 198
2,2',3,4,4',5 hexachlorobiphenyl	PCB 138	PCB 198
2,2',4,4',5,5' hexachlorobiphenyl	PCB 153	PCB 198
2,2',4,4',5,6' hexachlorobiphenyl	PCB 154	PCB 198
2,2',3,3',4,4',5 heptachlorobiphenyl	PCB 170	PCB 198
2,2',3,4,4',5,5' heptachlorobiphenyl	PCB 180	PCB 198
2,2',3,4',5,5',6 heptachlorobiphenyl	PCB 187	PCB 198
2,2',3,4',5,6,6' heptachlorobiphenyl	PCB 188	PCB 198
2,2',3,3',4,4',5,5' octachlorobiphenyl	PCB 194	PCB 198
2,2',3,3',4,4',5,6 octachlorobiphenyl	PCB 195	PCB 198
2,2',3,3',4,5',6,6' octachlorobiphenyl	PCB 201	PCB 198
2,2',3,3',4,4',5,5',6 nonachlorobiphenyl	PCB 206	PCB 198
2,2',3,3',4,4',5,5',6,6' décachlorobiphenyl	PCB 209	PCB 198

<i>Composés natifs</i>	<i>Etalon interne</i>
Aldrin	4,4' DDT-d8
Cis-chlordane	4,4' DDT-d8
Dieldrin	4,4' DDT-d8
2,4'DDE	4,4' DDT-d8
2,4'DDD	4,4' DDT-d8
4,4' DDE	4,4' DDT-d8
4,4'DDD	4,4' DDT-d8
2,4'DDT	4,4' DDT-d8
4,4'DDT	4,4' DDT-d8
Gamma-HCH	4,4' DDT-d8
Heptachlor	4,4' DDT-d8
Heptachlore-epoxide	4,4' DDT-d8
Hexachlorobenzene	4,4' DDT-d8
Mirex	4,4' DDT-d8
Trans-nonachlor	4,4' DDT-d8

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviations</i>	<i>Etalon interne</i>
2,2',4,4'tétrabromodiphenylether	PBDE 47	PCB 198
2,2',4,4',5 pentabromodiphenylether	PBDE 99	PCB 198
2,3',4,4',6 pentabromodiphenylether	PBDE 119	PCB 198
2,2'4,4',5,5' hexabromodiphenylether	PBDE 153	PCB 198

<i>Composés étalons internes</i>	<i>Abréviations</i>
2,4,6 trichlorobiphenyl	PCB 30
2,2',4,5',6 pentachlorobiphenyl	PCB 103
2,2',4,4',6,6' hexachlorobiphenyl	PCB 155
2,2'3,3'4,5,5',6 octachlorobiphenyl	PCB 198
Octachloronaphtalène (marqueur injection)	OCN

ANALYSES DES ALKYLPHENOLS

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase liquide : Agilent Technologies 1100

Volume injecté : 5 µL
 Débit : 0,150 mL.min⁻¹
 Phase mobile : A : 40 % MeOH/Eau/ Acétate d'ammonium
 B : 60% MeOH
 Colonne : KROMASIL C18
 150 mm x 2 mm ID, porosité 3 µm

- Spectromètre de masse: Agilent Technologies 1100 series LC/MSD

ESI Négatif

Gradient :

Temps	% de B
0	60
2	60
7	80
25	80
26	60
36	60

Température de l'azote : 350 °C
 Débit du gaz séchant : 10 l/min.
 Pression de Nébulisation : 15 psig

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
4-Nonylphénol	4NP	219	4-nNP
4-ter-Octylphénol	4-t-OP	205	4-nNP
Acide Nonylphénoxy acétique	NP1EC	277	4-nNP
Bisphénol A	BPA	227	BPA d16

<i>Composés étalons internes</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>
4-Nonylphénol (forme linéaire)	4-nNP	219
Bisphénol A d16	BPA d16	241

ESI Positif

Gradient :

Temps	% de B
0	60
2	60
7	80
35	80
38	60
52	60

Température de l'azote : 350 °C
 Débit du gaz séchant : 10 l/min.
 Pression de Nébulisation : 30 psig

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>	<i>Etalon interne</i>
4-Nonylphénol monoéthoxylé	4-NP1EO	282	4-nNP1EO
4-Nonylphénol diéthoxylé	4-NP2EO	331	4-nNP2EO

<i>Composés étalons internes</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>
Nonylphénol monoéthoxylé (forme linéaire)	4-nNP1EO	282
Nonylphénol diéthoxylé (forme linéaire)	4-nNP2EO	331

ANALYSES DES PHENYLUREES

CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLEE A UN SPECTROMETRE DE MASSE

- Chromatographe en phase liquide : Agilent Technologies 1100

Volume injecté : 5 µL
Débit : 0,150 mL.min⁻¹
Phase mobile : A : eau +0.1 % acide acétique
 B : Acétonitrile/Méthanol (80/20)

Colonne : KROMASIL C18
 150 mm x 2 mm ID, porosité 3 µm

Mode isocratique
Temps d'analyse : 20 min.

- Spectromètre de masse: Agilent Technologies 1100 series LC/MSD

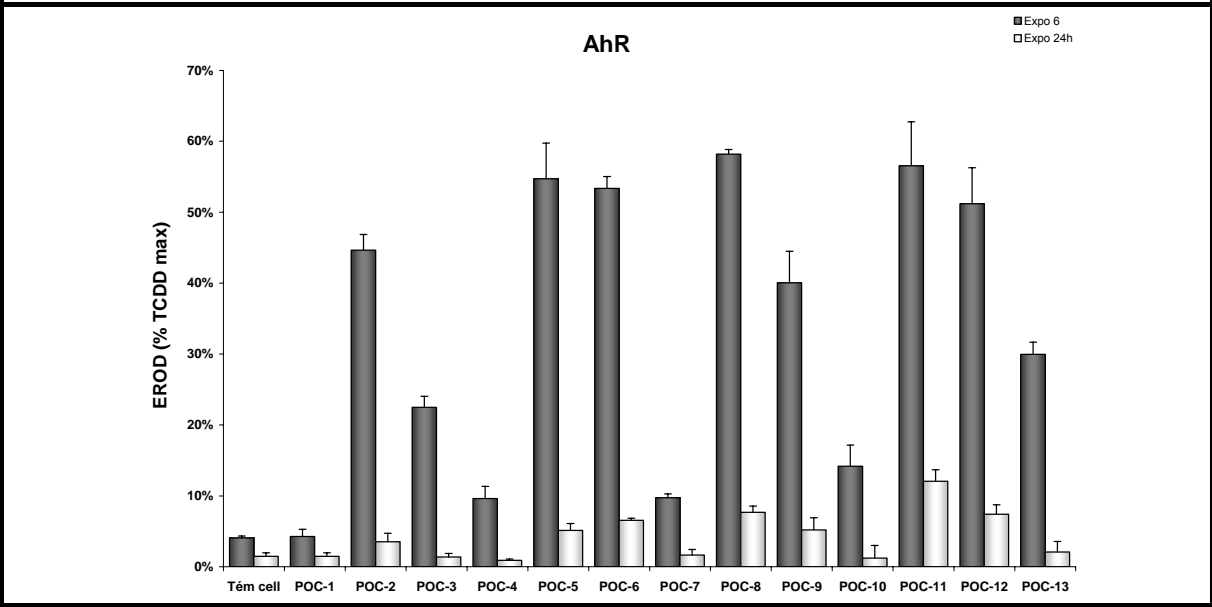
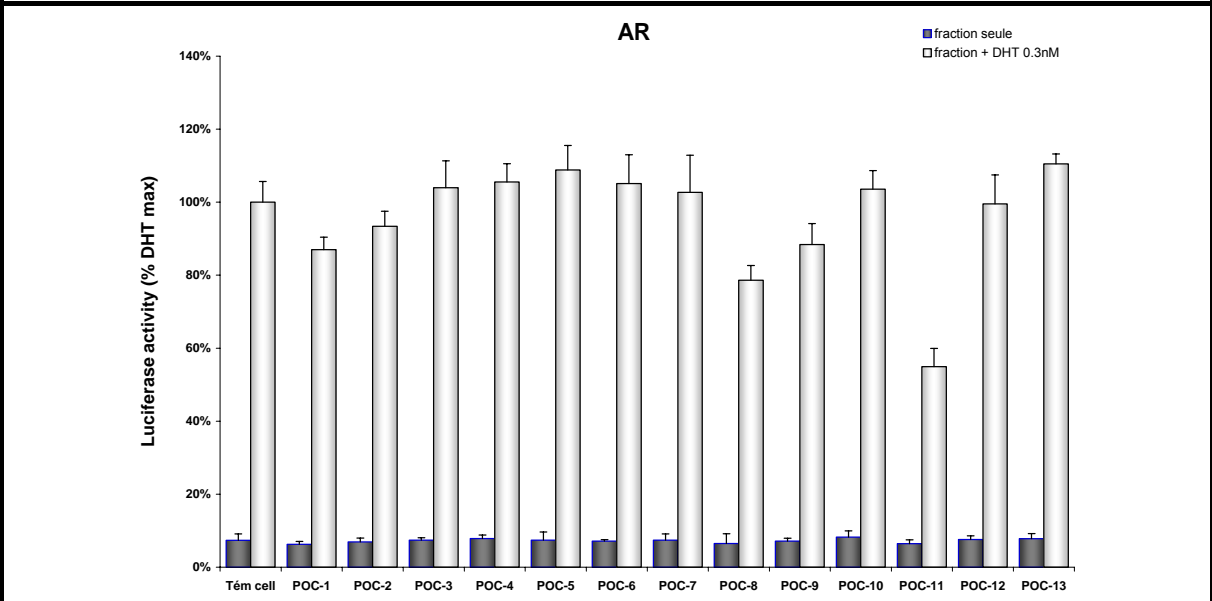
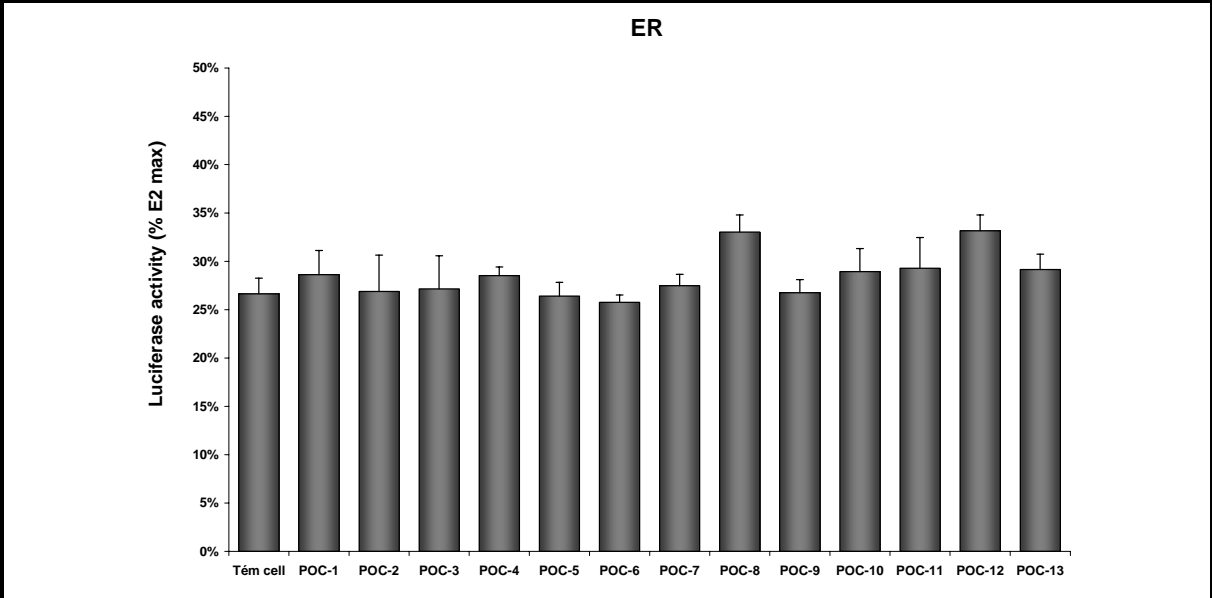
ESI Positif

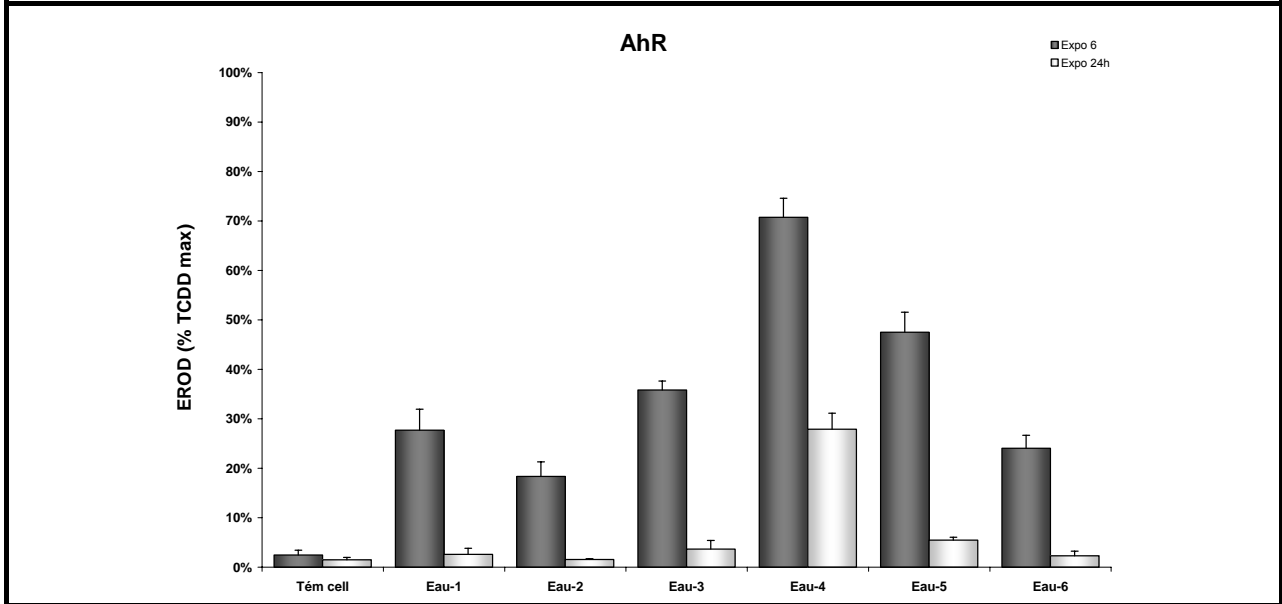
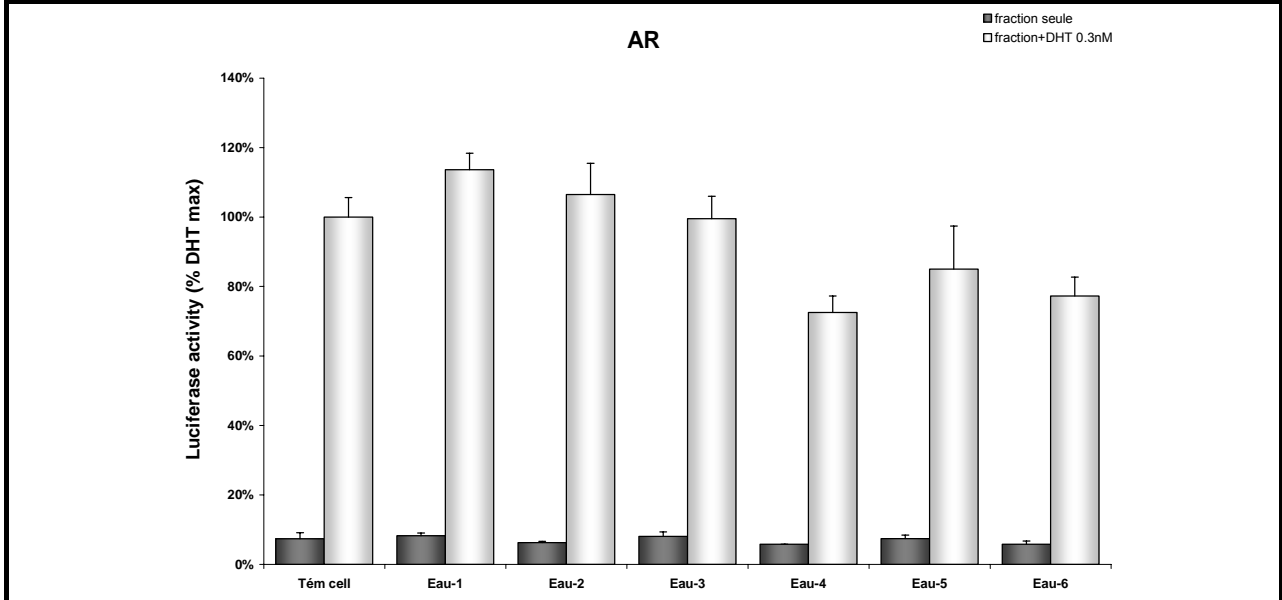
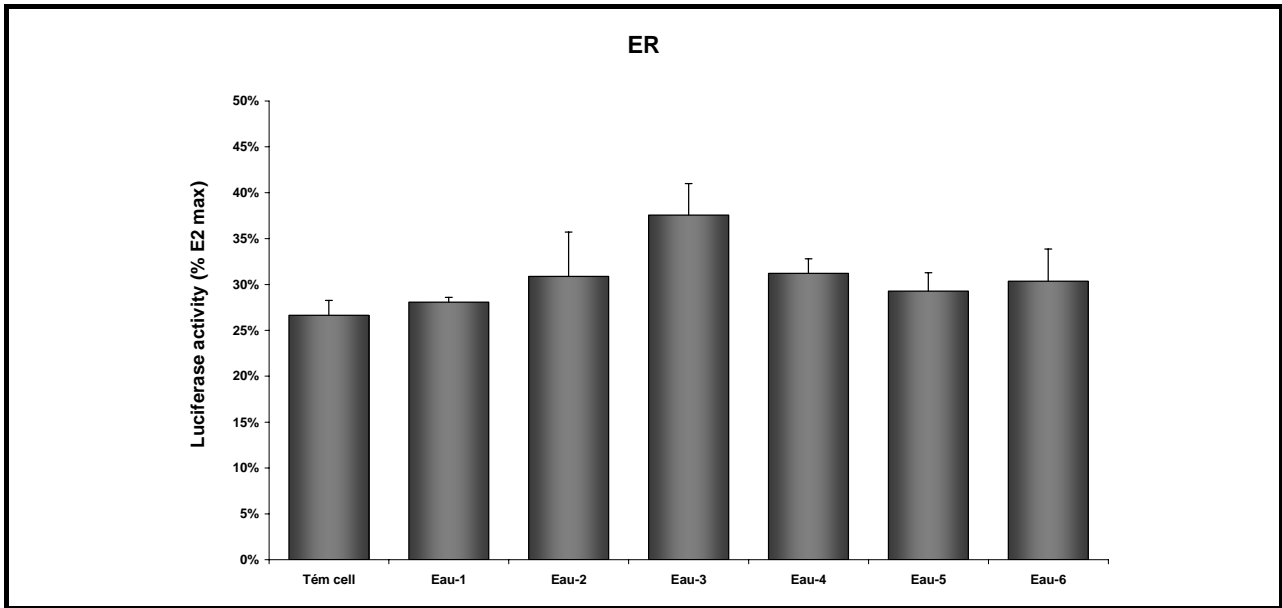
Température de l'azote : 350 °C
Débit du gaz séchant : 10 l/min.
Pression de Nébulisation : 30 psig
Voltage du capillaire : 3000 V
Voltage du Fragmentor : 40 V

Quantification par étalonnage externe

<i>Composés natifs</i>	<i>Abréviation</i>	<i>Ion de quantification (m/z)</i>
Diuron	Diuron	233
Isoproturon	isoproturon	207
Chlorotoluron	Chlorotoluron	213
Metoxuron	Metoxuron	229
Linuron	Linuron	249
Chlorsulfuron	chlorsulfuron	358
Nicosulfuron	Nicosulfuron	411
1-(2,4 dichlorophényl)-3 méthylurée	1343M	219
1-(3,4 dichlorophényl)-urée	134	205
1-(2,4 dichlorophényl)-urée	124	205

Annexe 9 - Résultats des Biotest pour la campagne novembre 2006





**Annexe 10 - Données de concentration
de la phase dissoute**

Mai 2007

**Analyse HAP Phase Dissoute
Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.L ⁻¹)	Nérac (ng.L ⁻¹)
naphtalene	<1	<1
acénaphthylène	1,6	nd
acénaphène	0,6	1,4
fluorène	0,7	1,2
phenanthrene	2	4
anthracene	0,2	0,4
fluoranthene	1,0	1,6
pyrene	1,2	1,5
BaA	nd	nd
triph+chrys	nd	0,5
BbF + BkF + BjF	nd	nd
BeP	nd	nd
BaP	nd	nd
Per	nd	nd
IP	nd	nd
DaA+DaC	nd	nd
BP	nd	nd
Somme HAP (ng.L⁻¹)	6	10

**Analyses PCB Phase Dissoute
Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.L ⁻¹)	Nérac (ng.L ⁻¹)
lindane	1,2	2
CB 50+28	nd	nd
CB 52	2	2
CB 101	3	3
CB 118	5	4
CB 153	2	2
CB 138	3	3
CB 180	0,4	0,3
Somme PCB (ng.L⁻¹)	15	14

**Analyses Phase Dissoute OCP
Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.L ⁻¹)	Nerac (ng.L ⁻¹)
HCB	nd	nd
Heptachlor	nd	nd
Aldrin	nd	nd
Hep.Hépoxyde	nd	nd
2,4'DDE	nd	nd
Cis Chlordane	nd	nd
Trans Nonachlor	nd	nd
4,4'DDE	nd	nd
Dieldrin	nd	nd
2,4'DDD	nd	nd
4,4'DDD	nd	nd
2,4'DDT	0,1	0,06
4,4'DDT	nd	nd
Mirex	nd	nd

**Analyses Phase Dissoute Triazines
Mai 2007**

Composés analysés	Portest (ng.L ⁻¹)	Nerac (ng.L ⁻¹)
Desethylsimazine	nd	nd
Desethylatrazine	7	22
Simazine	4	8
Carbofuran	nd	64
Atrazine	12	30
Carbaryl	nd	nd
Irgarol	nd	nd
Endosulfan Alpha	nd	nd
Endosulfan Beta	nd	nd

**Analyses Eaux Dissous AKP et Diuron
Mai 2007**

Composés analysés	Portest (ng L ⁻¹)	Nerac (ng L ⁻¹)
4NP	59	103
NP1EC	40	5
NP1EO	11	24
NP2EO	11	22
Diuron	32	12

Analyses Eaux Dissous Pharmaceutiques– Mai 2007

Composés analysés	Portets (ng.L ⁻¹)	Nérac (ng.L ⁻¹)
Aspirine	5,42	14,02
Ibuprofène	0,87	4,82
paracétamol	1,08	18,22
Genfibronil	0,52	nd
Terbutaline	0,02	nd
Salbutamol	0,13	nd
Naproxene	3,68	2,42
Clenbuterol	nd	nd
Ketoprofene	18,50	13,02
Diclofenac	nd	nd
Diazepan	nd	nd
Cafeine	18,92	38,59
Carbamazepine	6,48	7,45
Diazepan	nd	nd
Amitryptiline	0,03	nd
Imipramine	1,12	nd
Doxepine	0,02	nd
Nordiazepan	nd	nd

**Annexe 11 - Données de concentration de la phase
particulaire**

Mai 2007

**Analyses HAP phase particulaire
09 Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.g ⁻¹ ps)	Nérac (ng.g ⁻¹ ps)
naphtalene	12	6
acénaphthylène	5	1
acénaphène	12	2
fluorène	40	11
phenanthrène	150	27
anthracene	23	1
fluoranthene	176	18
pyrene	182	17
BaA	68	7
triph+chrys	103	15
BbF + BkF + BjF	173	26
BeP	62	12
BaP	71	13
Per	31	8
IP	61	13
DaA+DaC	12	3
BP	59	11
Somme HAP (ng/g)	1251	195

	Portets	Nerac
Masse part (mg)	219	627
MES (mg.L ⁻¹)	37	278

**Analyses PCB Phase Particulaire
Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.g ⁻¹)	Nerac (ng.g ⁻¹)
lindane	4	1,2
CB 50+28	nd	nd
CB 52	22	8
CB 101	21	8
CB 118	15	5
CB 153	5	2
CB 138	7	3
CB 180	1,5	0,6
Somme PCB (ng.g⁻¹)	70	25

	Portets	Nerac
Masse part (mg)	219	627
MES (mg.L ⁻¹)	37	278

**Analyses OCP Phase Particulaire
Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.g ⁻¹)	Nerac (ng.g ⁻¹)
HCB	0,2	0,05
Heptachlor	nd	nd
Aldrin	nd	nd
Hep.Hépoxyde	nd	nd
2,4'DDE	nd	nd
Cis Chlordane	nd	nd
Trans Nonachlor	nd	0,07
4,4'DDE	nd	nd
Dieldrin	nd	nd
2,4'DDD	nd	nd
4,4'DDD	1	0,3
2,4'DDT	nd	0,04
4,4'DDT	nd	nd
Mirex	nd	nd

**Analyses Phase particulaire AKP
Mai 2007**

Composés analysés	Portets (ng.g ⁻¹)	Nerac (ng.g ⁻¹)
4NP	962	102
NP1EC	20	19
NP1EO	46	19
NP2EO	14	16

Annexe 12 - Analyses des différentes fractions

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
Caféine	+	8620	+	401	nd	-
Amitriptyline	nd	-	nd	-	nd	-
Imipramine	nd	-	nd	-	nd	-
Doxepine	nd	-	nd	-	nd	-
Carbamazépine	+	8724	nd	-	nd	-
Diazepam	nd	-	nd	-	nd	-
Nordiazepam	nd	-	nd	-	nd	-

Tableau 1 : résultats des dosages qualitatifs des substances pharmaceutiques réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
Caféine	15	0,4	nd
Amitriptyline	nd	Nd	nd
Imipramine	nd	Nd	nd
Doxepine	0,1	Nd	nd
Carbamazépine	1,6	0,1	nd
Diazepam	nd	Nd	nd
Nordiazepam	0,1	Nd	Nd
Théophylline	0,6	1	nd
Aspirine	0,9	1	0,001
Paracétamol	0,6	6	nd
Gemfibrozil	1	1,6	nd
Diclofénac	0,5	3,7	nd
Naproxène	nd	nd	nd
Ibuprofène	nd	nd	nd
Kétoprofène	nd	nd	nd
Salbutamol	nd	nd	nd
Clenbutérol	nd	nd	nd
Terbutaline	nd	nd	nd

Tableau 2 : résultats des dosages semi-quantitatifs (ng) des substances pharmaceutiques réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Phase dissoute</i>
Caféine	12,41	0,33	nd	38,5
Amitriptyline	nd	nd	nd	nd
Imipramine	nd	nd	nd	nd
Doxepine	0,01	nd	nd	nd
Carbamazépine	0,26	0,02	nd	7,5
Diazepam	nd	nd	nd	nd
Nordiazepam	nd	nd	nd	nd
Théophylline	nd	nd	nd	nd
Aspirine	7,26	8,06	0,01	14,0
Paracétamol	1,61	16,13	nd	18,2
Gemfibrozil	1,19	1,91	nd	nd
Diclofénac	0,19	1,44	nd	nd
Naproxène	nd	nd	nd	nd
Ibuprofène	nd	nd	nd	nd
Kétoprofène	nd	nd	nd	nd
Salbutamol	nd	nd	nd	nd
Clenbutérol	nd	nd	nd	nd
Terbutaline	nd	nd	nd	nd

Tableau 3 : résultats des dosages quantitatifs (ng.L⁻¹) des substances pharmaceutiques réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) et analyse phase dissoute; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
Naphtalène	+	50907	+	375	nd	-
Biphényle	+	8572	+	64	nd	-
Acenaphtène	+	5534	nd	-	nd	-
Acénaphtylène	+	3267	+	35	nd	-
Fluorène	+	3231	nd	-	nd	-
Dibenzothiophène	+	1027	+	18	nd	-
Phénanthrène	+	9993	nd	-	nd	-
Antracène	+	1010	nd	-	nd	-
Fluoranthène	+	1481	nd	-	nd	-
Pyrène	+	1240	nd	-	nd	-
Benzo(a)Anthracène	+	471	nd	-	nd	-
Chrysène	+	564	nd	-	nd	-
Benzo(b,j,k)fluoranthène	+	634	nd	-	nd	-
Benzo(e)pyrène	+	1170	nd	-	nd	-
Benzo(a)pyrène	+	547	nd	-	nd	-
Pérylène	nd	-	nd	-	nd	-
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	+	441	nd	-	nd	-
Dibenzo(a,h)anthracène	nd	-	nd	-	nd	-
Benzo(g,h,i)pérylène	+	595	nd	-	nd	-

Tableau 4 : résultats des dosages qualitatifs des HAP réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50:50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
Naphtalène	62	0,48	nd
Biphényle	12	0,15	nd
Acenaphtène	8	nd	nd
Acénaphtylène	9	0,12	nd
Fluorène	7	nd	nd
Dibenzothiophène	2	0,01	nd
Phénanthrène	13	nd	nd
Antracène	2	nd	nd
Fluoranthène	2	nd	nd
Pyrène	1	nd	nd
Benzo(a)Anthracène	1	nd	nd
Chrysène	1	nd	nd
Benzo(b,j,k)fluoranthène	2	nd	nd
Benzo(e)pyrène	3	nd	nd
Benzo(a)pyrène	1	nd	nd
Pérylène	nd	nd	nd
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	1	nd	nd
Dibenzo(a,h)anthracène	nd	nd	nd
Benzo(g,h,i)pérylène	1	nd	nd

Tableau 5 : résultats des dosages semi quantitatifs exprimés en ng des HAP réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50:50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
Atrazine désisopropyl	nd	-	nd	-	nd	-
Atrazine déséthyl	+	4039	nd	-	nd	-
Simazine	nd	-	nd	-	nd	-
Atrazine	+	11460	nd	-	nd	-
Cyromazine	nd	-	nd	-	nd	-
Propazine	nd	-	nd	-	nd	-
Terbuthylazine	+	1224	nd	-	nd	-
Promethryn	+	640	nd	-	nd	-
Terbuthryn	+	529	nd	-	nd	-
Cyanazine	nd	-	nd	-	nd	-
Irgarol	nd	-	nd	-	nd	-
Pymethroline	nd	-	nd	-	nd	-

Tableau 6 : résultats des dosages qualitatifs des pesticides triazines réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
Atrazine désisopropyl	6	nd	nd
Atrazine déséthyl	18	nd	nd
Simazine	nd	nd	nd
Atrazine	2	nd	nd
Cyromazine	nd	nd	nd
Propazine	nd	nd	nd
Terbuthylazine	2	nd	nd
Promethryn	2	nd	nd
Terbuthryn	1	nd	nd
Cyanazine	nd	nd	nd
Irgarol	nd	nd	nd
Pymethroline	nd	nd	nd

Tableau 7 : résultats des dosages semi quantitatifs exprimés en ng des pesticides triazines réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
Bifenthrine	nd	-	nd	-	nd	-
Lambda-cyhalothrine	nd	-	nd	-	nd	-
Acrinathrine	nd	-	nd	-	nd	-
Permethrine	nd	-	nd	-	nd	-
Cyfluthrine	nd	-	nd	-	nd	-
Cypermethrine	nd	-	nd	-	nd	-
Fenvalerate	nd	-	nd	-	nd	-
Tau-Fluvalinate	nd	-	nd	-	nd	-
Esfenvalerate	nd	-	nd	-	nd	-
Deltamethrine	nd	-	nd	-	nd	-

Tableau 8 : résultats des dosages qualitatifs des pesticides pyréthrinoïdes réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
4-Teroctylphénol	+	3825	+	321	+	91
Nonylphénol	+	7434	+	1116	+	1134
NP1EO	+	1133	nd	-	nd	-
Bisphenol A	+	2175	+	428	nd	-
NP2EO	+	nd	nd	-	nd	-

Tableau 9 : résultats des dosages qualitatifs des alkylphénols réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

<i>Composés</i>	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
Nonylphénol	20	3	3
NP1EO	nd	nd	nd
NP2EO	nd	nd	nd
NP1EC	nd	9	nd

Tableau 10 : résultats des dosages semi-quantitatifs (ng) des alkylphénols réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
Azinphos éthyl	nd	-	nd	-	nd	-
Azinphos méthyl	nd	-	nd	-	nd	-
Bromophos éthyl	nd	-	nd	-	nd	-
Bromophos méthyl	nd	-	nd	-	nd	-
Chlorfenvenfos	nd	-	nd	-	nd	-
Chlormephos	nd	-	nd	-	nd	-
Chlorpyrifos methyl	nd	-	nd	-	nd	-
Coumaphos	nd	-	nd	-	nd	-
Diazinon	nd	-	nd	-	nd	-
Dichlorvos	nd	-	nd	-	nd	-
Dimethoate	nd	-	nd	-	nd	-
Ethoprophos	nd	-	nd	-	nd	-
Fenithroton	nd	-	nd	-	nd	-
Fenthion	nd	-	nd	-	nd	-
Fonofos	nd	-	nd	-	nd	-
Isophenphos	nd	-	nd	-	nd	-
Malaaxon	nd	-	nd	-	nd	-
Malathion	nd	-	nd	-	nd	-
Mevinphos	nd	-	nd	-	nd	-
Parathion éthyl	nd	-	nd	-	nd	-
Parathion méthyl	nd	-	nd	-	nd	-
Phorate	nd	-	nd	-	nd	-
Phosmet	nd	-	nd	-	nd	-
Tetrachlorfenvinphos	nd	-	nd	-	nd	-
Trichlorfon	nd	-	nd	-	nd	-

Tableau 11 : résultats des dosages qualitatifs des pesticides organophosphorés réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2005 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50:50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abondance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abondance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abondance fraction 3</i>
Hexachlorobenzene	nd	-	nd	-	nd	-
Lindane	+	65029	nd	-	nd	-
Heptachlor	+	13232	nd	-	nd	-
Aldrin	nd	-	nd	-	nd	-
Heptachlor epoxide	nd	-	nd	-	nd	-
2,4' DDE	nd	-	nd	-	nd	-
Cis chlordane	nd	-	nd	-	nd	-
Trans nonachlor	nd	-	nd	-	nd	-
4,4' DDE + dieldrin	nd	-	nd	-	nd	-
2,4' DDD	nd	-	nd	-	nd	-
4,4' DDD	nd	-	nd	-	nd	-
2,4' DDT	nd	-	nd	-	nd	-
4,4' DDT	+	9906	nd	-	nd	-
Mirex	nd	-	nd	-	nd	-

Tableau 12 : résultats des dosages qualitatifs des pesticides organochlorés réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2005 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/ECD.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
Hexachlorobenzene	nd	nd	nd
Lindane	2	nd	nd
Heptachlor	1	nd	nd
Aldrin	nd	nd	nd
Heptachlor epoxide	nd	nd	nd
2,4' DDE	nd	nd	nd
Cis chlordane	nd	nd	nd
Trans nonachlor	nd	nd	nd
4,4' DDE + dieldrin	nd	nd	nd
2,4' DDD	nd	nd	nd
4,4' DDD	nd	nd	nd
2,4' DDT	nd	nd	nd
4,4' DDT	1	nd	nd
Mirex	nd	nd	nd

Tableau 13 : résultats des dosages semi quantitatifs exprimés en ng des pesticides organochlorés réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2005 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50 :50 v :v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/ECD.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Abundance fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Abundance fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>	<i>Abundance fraction 3</i>
Oestrone (E1)	nd	-	nd	-	nd	-
17 β -oestradiol (E2)	nd	-	nd	-	+	210
Oestriol (E3)	nd	-	nd	-	nd	-
Androsténone (A)	nd	-	nd	-	-	-
Testostérone (T)	nd	-	nd	-	+	317
5-Dihydrotestostérone (DHT)	nd	-	nd	-	nd	-
5-Dihydroandrosténone (DHA)	nd	-	nd	-	nd	-
Déhydroépiandrosténone (DHEA)	nd	-	nd	-	nd	-
11-Cetotestostérone (11-CT)	nd	-	nd	-	nd	-
Progestérone (Pg)	nd	-	nd	-	nd	-
Prégnénone (Pn)	nd	-	nd	-	nd	-
17 α -hydroxyprégnénone (OHPn)	nd	-	nd	-	nd	-
17 α -hydroxyprogestérone (OHPg)	nd	-	nd	-	nd	-
17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone (DHP)	nd	-	nd	-	nd	-
17 α -éthynylœstradiol (EE2)	nd	-	nd	-	nd	-
Mestranol (MeEE2)	nd	-	nd	-	nd	-
Noréthindrone (No)	nd	-	nd	-	nd	-
Lévonorgestrel (DN)	nd	-	nd	-	nd	-

Tableau 14 : résultats des dosages qualitatifs des stéroïdes réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50:50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
Oestrone (E1)	nd	nd	nd
17 β -oestradiol (E2)	nd	nd	2
Oestriol (E3)	nd	nd	nd
Androsténone (A)	nd	nd	nd
Testostérone (T)	nd	nd	2
5-Dihydrotestostérone (DHT)	nd	nd	nd
5-Dihydroandrosténone (DHA)	nd	nd	nd
Déhydroépiandrosténone (DHEA)	nd	nd	nd
11-Cetotestostérone (11-CT)	nd	nd	nd
Progestérone (Pg)	nd	nd	nd
Prégnénone (Pn)	nd	nd	nd
17 α -hydroxyprégnénone (OHPn)	nd	nd	nd
17 α -hydroxyprogestérone (OHPg)	nd	nd	nd
17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone (DHP)	nd	nd	nd
17 α -éthynylœstradiol (EE2)	nd	nd	nd
Mestranol (MeEE2)	nd	nd	nd
Noréthindrone (No)	nd	nd	nd
Lévonorgestrel (DN)	nd	nd	nd

Tableau 15 : résultats des dosages semi-quantitatifs exprimés en ng des stéroïdes réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50:50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par GC/MS.

	<i>Fraction 1</i>	<i>Fraction 2</i>	<i>Fraction 3</i>
diuron	23	nd	nd
chlorotoluron	24	nd	nd
isoproturon	6	nd	nd
metoxuron	23	5	7,4
linuron	12	nd	nd
chlorsulfuron	5	nd	nd
nicosulfuron	119	nd	nd

Tableau 16 : résultats des dosages semi-quantitatifs exprimés en ng des phényl-urées réalisés sur la phase POCIS à Nérac en mai 2007 : extraction séquentielle (F1 : 100 % dichlorométhane ; F2 : 50:50 v:v dichlorométhane : méthanol ; F3 100% méthanol) ; analyses par LC/MS.