

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ -
NANCY I

FACULTE DE MEDECINE

**LABORATOIRE D'HYGIENE
ET DE RECHERCHE
EN SANTE PUBLIQUE**

11Bis, Rue Gabriel Péri
B.P. 288
54515 - VANDOEUVRE CEDEX

Tél. : 03.83.50.36.36
Télécopie : 03.83.57.90.75

AGENCE DE L'EAU RHIN-MEUSE

"Le Longeau"
Route de Lessy
ROZERIEULLES
B.P. n° 19

57160 - MOULINS LES METZ



n°

21189

Détermination des concentrations de divers pesticides dans le cours aval de la Moselle

la Moselle

Rapport

Dans ce rapport sont présentés successivement les détails sur le déroulement de l'étude, les méthodes d'analyses utilisées et leurs performances, les résultats de la première campagne, puis ceux de la deuxième campagne.

En annexe figurent pour chaque campagne un exemple de courbe d'étalonnage pour chaque composé, un exemple de chromatogramme étalon et un chromatogramme d'extrait positif.

I - DEROULEMENT DE L'ETUDE

Pour cette étude, deux campagnes d'échantillonnage ont été effectuées :

- campagne de printemps du 15/04/1996 au 24/06/1996;
- campagne d'automne du 30/08/1996 au 05/12/1996.

Pour chaque campagne, les échantillons journaliers prélevés par l'échantillonneur automatique de l'Agence Rhin-Meuse installé sur le site (BERG) ont été acheminés au LHRSP chaque jeudi en véhicule réfrigéré.

A leur arrivée au laboratoire, des aliquotes de chaque prélèvement journalier ont été rassemblés pour la réalisation de l'échantillon moyen hebdomadaire.

Sur cet échantillon moyen, sont effectuées les recherches demandées.

II - ANALYSES EFFECTUEES

Sur chaque échantillon moyen, les analyses suivantes ont été effectuées :

- leCOD,
- la recherche des molécules suivantes :
 - . Tebutame,
 - . Urées substituées : Isoproturon, Linuron, Diuron, Chlorotoluron,
 - . Alachlor, Metazachlor,
 - . Flusilazole.

Pour la deuxième campagne et en raison de la pollution pouvant provenir de l'incendie de la SANE, deux autres molécules ont été ajoutées à cette liste : Lindane et Trifluralin.

III - METHODES UTILISEES ET LEURS PERFORMANCES

III - 1. Dosage du COD

Appareil utilisé

MODEL 700 TOC ANALYSER - OI CORPORATION

Principe de la méthode

Une partie aliquote de l'échantillon moyen est filtrée sur une membrane à 0,45 μ . Le filtrat est ensuite acidifié, purgé de son carbone minéral. Le carbone organique est ensuite transformé en CO₂ par oxydation chimique (persulfate de sodium à 100°C). Le CO₂ formé est entraîné par un courant gazeux et dosé par **I.R.**

III - 2. Extraction en vue de la recherche des pesticides

Une extraction liquide solide sur cartouche C18 à l'aide de l'Auto Trace SPE Workstation est pratiquée.

La séquence d'extraction est la suivante :

- . conditionnement de la colonne (passage de 10 ml de dichlorométhane, 10 ml de méthanol et 10 ml d'eau) ; débit = 15 d m i n .
- . percolation de 500 ml d'échantillon sur la colonne ; débit = 10 ml/min.
- . séchage de la colonne pendant 20 min.
- . élution à l'aide de 3 ml de méthanol ; débit = 5 d m i n .
- . rinçage,
- . séchage de la colonne.

Après élution, les extraits sont évaporés sous courant d'azote à 1 ml.

L'extrait obtenu est tout d'abord analysé en HPLC-UV - barrette de diodes puis en GC-MS.

III - 3. Analyse par HPLC-UV - barrette de diodes

Cette méthode a été utilisée principalement pour rechercher et quantifier les urées substituées et le Flusilazole

H.P.L.C. UV barrette de diodes (WATERS)

- Volume injecté : 250 μ l
- Colonne ODS - 80 TM (VARIAN) 25 cm
- Elution avec gradient

Méthode utilisée

Méthode avec gradient d'élution

Composition de l'éluant :

- Eluant A : 1 l d'eau ultrapure
100 ml d'acétonitrile (qualité grade pour HPLC - SDS)
2 ml d'acide orthophosphorique
- Eluant B : 1 l d'acétonitrile
100 ml d'eau ultrapure
2 ml d'acide orthophosphorique

| | | | | | |
|-----------|------|------|---|------|------|
| t = 0 mn | 100% | de A | - | 0% | de B |
| t = 40 mn | 0% | de A | - | 100% | de B |

Détection

Barrette de diodes 190- 367 nm

Les performances de cette méthode sont résumées dans le tableau ci-dessous (rendement d'extraction moyen obtenu sur l'échantillon moyen dopé et limites de quantification dans l'eau à étudier) et en annexe sont présentées les courbes d'étalonnage pour chaque composé ainsi qu'un exemple de chromatogramme étalon et un exemple d'échantillon positif pour chaque campagne.

| PESTICIDES | 1ère Campagne | | 2ème Campagne | |
|---------------|--------------------------------|---|--------------------------------|---|
| | Rendement d'extraction moyen % | Limites de quantification $\mu\text{g/l}$ | Rendement d'extraction moyen % | Limites de quantification $\mu\text{g/l}$ |
| Isoproturon | 91 | 0,010 | 102 | 0,010 |
| Linuron | 96 | 0,050 | 86 | 0,060 |
| Chlorotoluron | 88 | 0,030 | 97 | 0,030 |
| Diuron | 85 | 0,040 | 80 | 0,040 |
| Flusilazole | 100 | 0,060 | 90 | 0,060 |

III - 4. Analyse par GC-MS

Cette méthode a été utilisée principalement pour rechercher et quantifier les molécules suivantes

Tébutame, Alachlor, Métazachlor, (et Lindane et Trifluralin pour la 2ème campagne)

Matériel utilisé

Chromatographe en phase gazeuse 3400 **VARIAN** équipé d'un passeur automatique 8100, d'un injecteur à froid, d'une colonne DB5 30 m et d'un détecteur de masse SATURN.

Méthode chromatographique utilisée

Température de l'injecteur : 250°C

Volume de l'extrait injecté : 1 μl

Programmation de la température du four

Température initiale : 100°C pendant 1 mn
/ 300°C à raison de 10°C par mn
palier à 300°C pendant 5'

Température de la ligne de transfert : 260°C

Domaine d'acquisition du détecteur de masse de 40 à 450 m/z

Mode : impact électronique.

Les performances de cette méthode sont résumées dans le tableau ci-dessous et en annexe sont présentées les courbes d'étalonnage pour chaque composé ainsi qu'un exemple de chromatogramme étalon.

| PESTICIDES | 1ère Campagne | | 2ème Campagne | |
|-------------|--------------------------------|---|--------------------------------|---|
| | Rendement d'extraction moyen % | Limites de quantification $\mu\text{g/l}$ | Rendement d'extraction moyen % | Limites de quantification $\mu\text{g/l}$ |
| Tébutame | 81 | 0,020 | 88 | 0,020 |
| Alachlor | 95 | 0,040 | 65 | 0,050 |
| Metazachlor | 100 | 0,060 | 62 | 0,080 |

RESULTATS PREMIERE CAMPAGNE

15 AVRIL 1996 AU 24 JUIN 1996

CAMPAGNE 1 - du 15/04/96 au 24/04/96

| f. Laboratoire | Période de prélèvement | COD | Tébutame | Isoproturon | Linuron | Diuron | Chlortoluron | Alachlor | Metazachlor | Flusilazole |
|----------------|------------------------|------|----------|-------------|---------|---------|--------------|----------|-------------|-------------|
| | du ../.. au ../.. | mg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l |
| 4046 | du 15/04 au 21/04 | 4,70 | < 0,020 | 0,094 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 4295 | du 23/04 au 29/04 | 4,1 | < 0,020 | 0,08 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 4528 | du 30/04 au 06/05 | 3,76 | < 0,020 | 0,044 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 4791 | du 06/05 au 13/05 | 3,86 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 4959 | du 15/05 au 20/05 | 3,63 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 5189 | du 21/05 au 27/05 | 3,81 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 5529 | du 28/05 au 03/06 | 4,17 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 5815 | du 04/06 au 11/06 | 4,26 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 6283 | du 11/06 au 17/06 | 3,7 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |
| 6384 | du 18/06 au 24/06 | 3,69 | < 0,020 | < 0,010 | < 0,050 | < 0,030 | < 0,030 | < 0,040 | < 0,060 | < 0,060 |

RESULTATS DEUXIEME CAMPAGNE

CAMPAGNE 2 - DU 30 AOUT AU 05 DECEMBRE 1996

| réf. Laboratoire | Période de Prélèvement | COD | Tébutame | soproturor | Linuron | Diuron | Chlortoluron | Alachlor | bietazachlor | Flusilazole | Trifluralir | Lindane |
|------------------|------------------------|------|----------|------------|---------|---------|--------------|----------|--------------|-------------|-------------|---------|
| | du ../.. au ../.. | mg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l | µg/l |
| 10682 | du 30/08 au 05/09 | 397 | 0,394 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | = 0,010 | c 0,010 |
| 11074 | du 07/09 au 13/09 | 4,04 | 0,206 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | = 0,010 | < 0,010 |
| 11574 | du 12/09 au 19/09 | 4,22 | 0,265 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | 0,062 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | < 0,010 |
| 11923 | du 19/09 au 26/09 | 4,03 | 0,289 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | c 0,050 | 0,12 | < 0,060 | c 0,010 | = 0,010 |
| 12229 | du 27/09 au 04/10 | 4,2 | 0,437 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | c 0,010 |
| 12384 | du 03/10 au 10/10 | 3,88 | 0,301 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | c 0,010 |
| 12604 | du 11/10 au 17/10 | 3,91 | 0,388 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | c 0,010 |
| 13070 | du 18/10 au 24/10 | 3,55 | 0,086 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | = 0,010 | c 0,010 |
| 13366 | du 25/10 au 31/10 | 3,53 | 0,046 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | c 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | c 0,010 |
| 13545 | du 01/11 au 07/11 | 4,04 | 0,225 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | c 0,080 | c 0,060 | = 0,010 | c 0,010 |
| 13761 | du 07/11 au 14/11 | 3,84 | 0,1 | 0,522 | < 0,060 | < 0,040 | 0,148 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | < 0,010 |
| 14416 | du 15/11 au 20/11 | 4,94 | 0,194 | 0,358 | < 0,060 | < 0,040 | 0,1 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | = 0,010 | < 0,010 |
| 14415 | du 21/11 au 28/11 | 5,27 | 0,271 | < 0,010 | < 0,060 | c 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | c 0,080 | c 0,060 | = 0,010 | < 0,010 |
| 14995 | du 28/11 au 05/12 | 4,42 | 0,039 | < 0,010 | < 0,060 | < 0,040 | < 0,030 | < 0,050 | < 0,080 | < 0,060 | c 0,010 | < 0,010 |

CAMPAGNE 2 1996 - ANALYSE JOURNALIERE

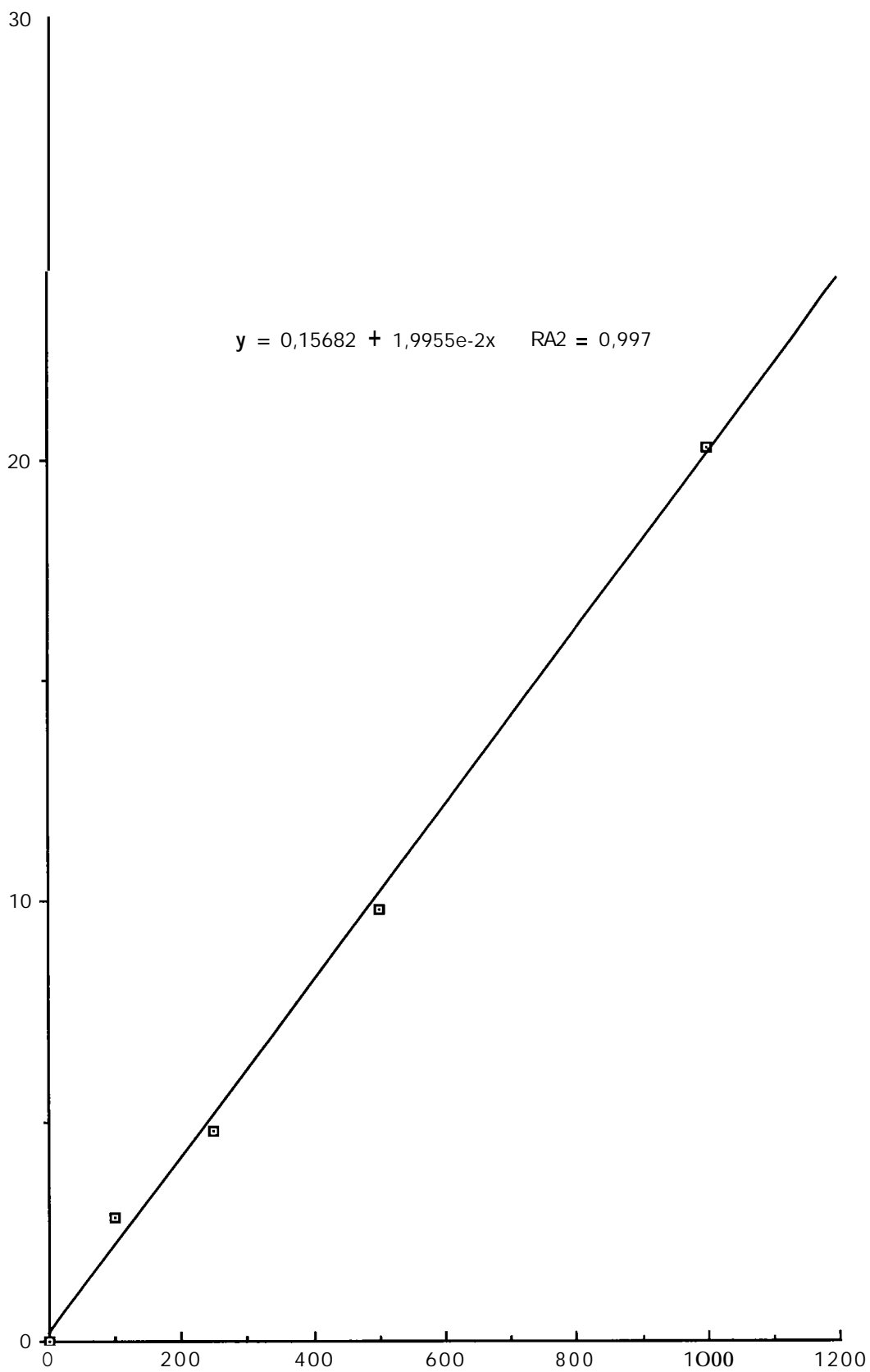
| N° de Prélèvement | Date | Isoproturon |
|-------------------|---------------|------------------|
| | | µg/l |
| 3695 | 07/11 - 08/11 | 0,497 |
| 3696 | 08/11 - 09/11 | 0,375 |
| 3697 | 09/11 - 10/11 | 0,361 |
| 3698 | 10/11 - 11/11 | 0,38 |
| 13699 | 11/11 - 12/11 | 0,678 |
| 13700 | 12/11 - 13/11 | 0,497 |
| 13701 | 13/11 - 14/11 | plus assez d'eau |

ANNEXES

lère Campagne

surface 10-3

METAZACHLOR

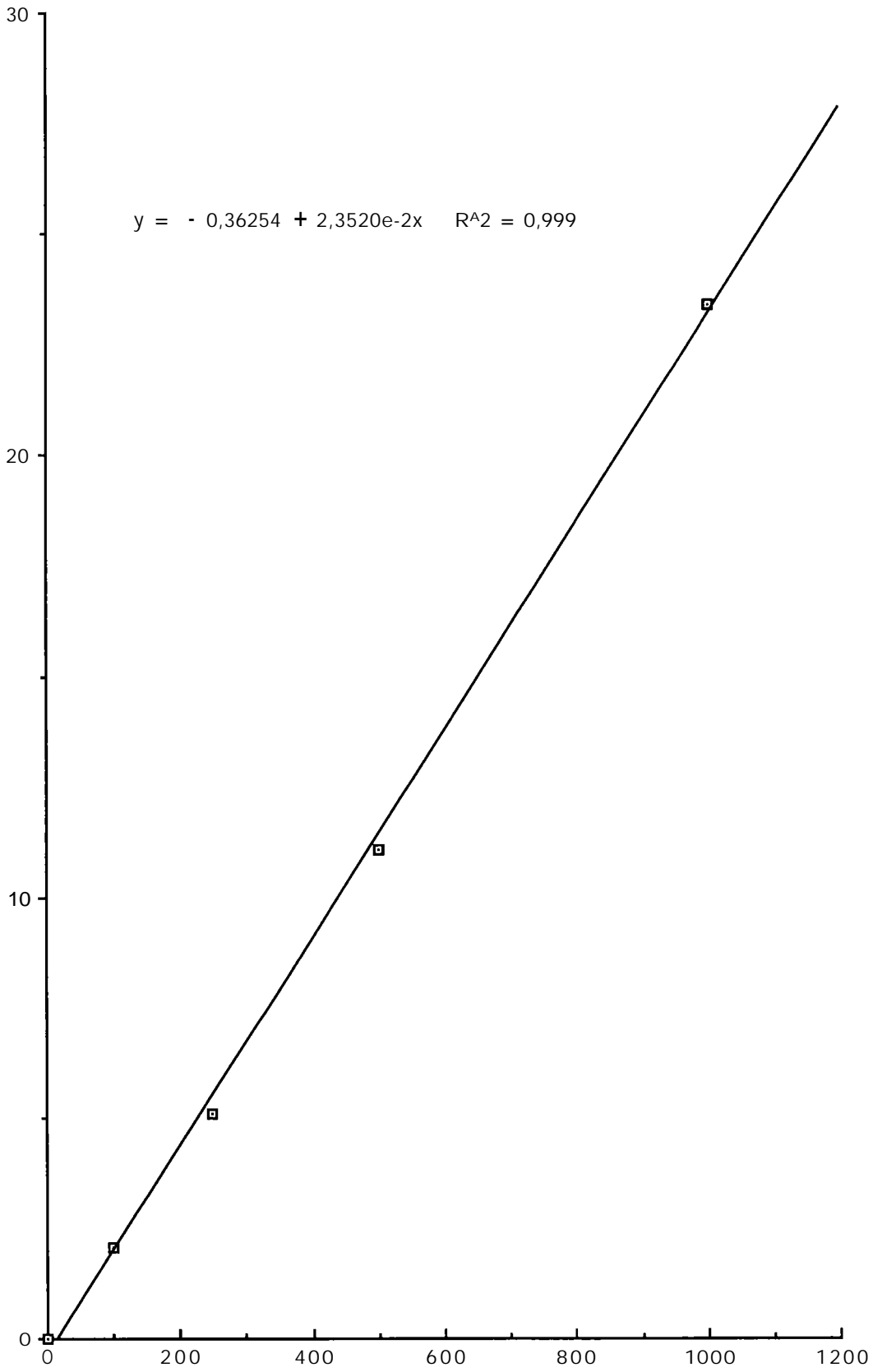


conc ug/l

1ère campagne : courbe d'étalonnage GC-MS
Surface = f (conc.)

ALACHLOR

surface 10-3

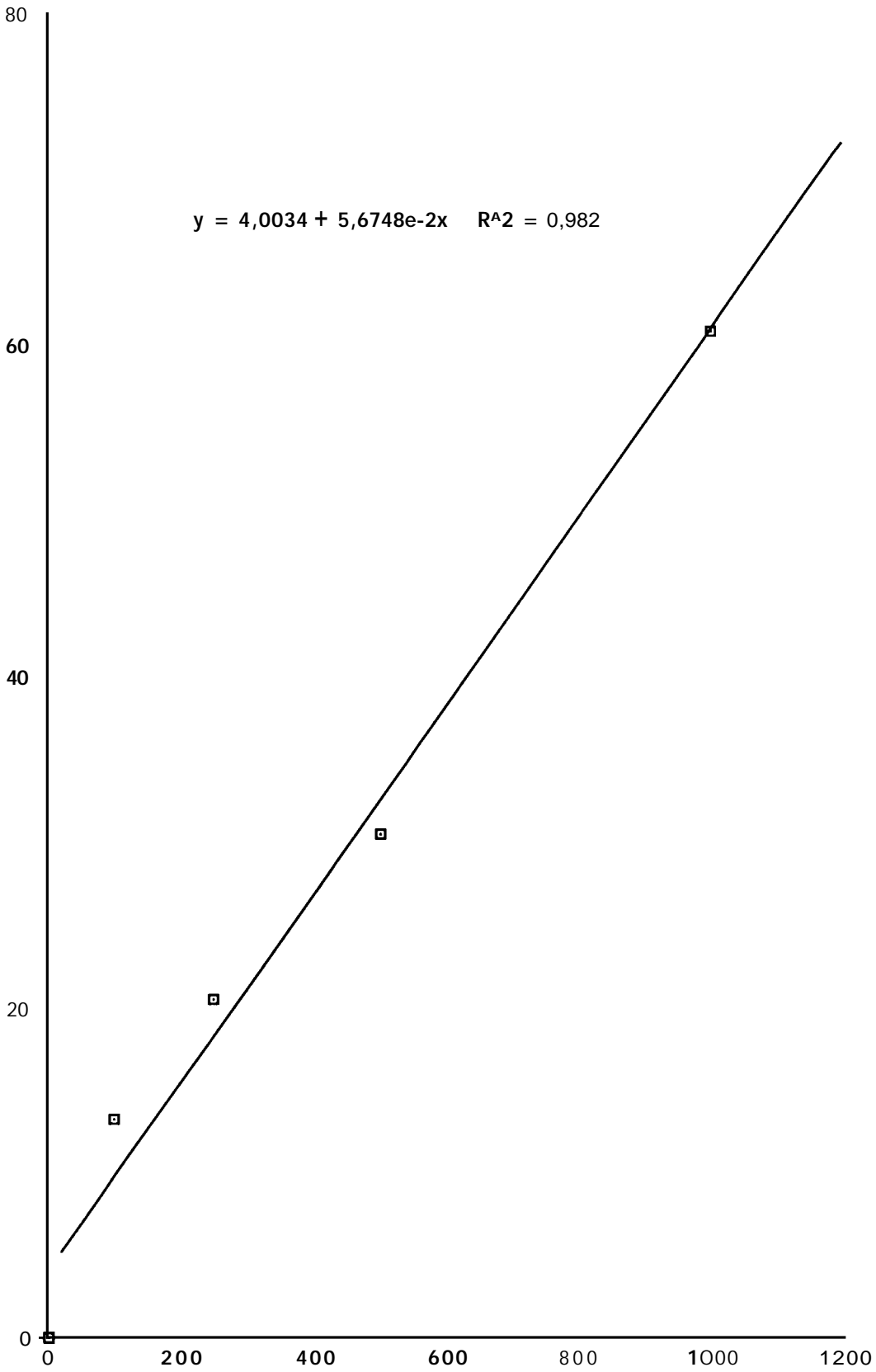


conc ug/l

1ère campagne : courbe d'étalonnage GC-MS
Surface = f (conc.)

surface 10-3

TEBUTAM

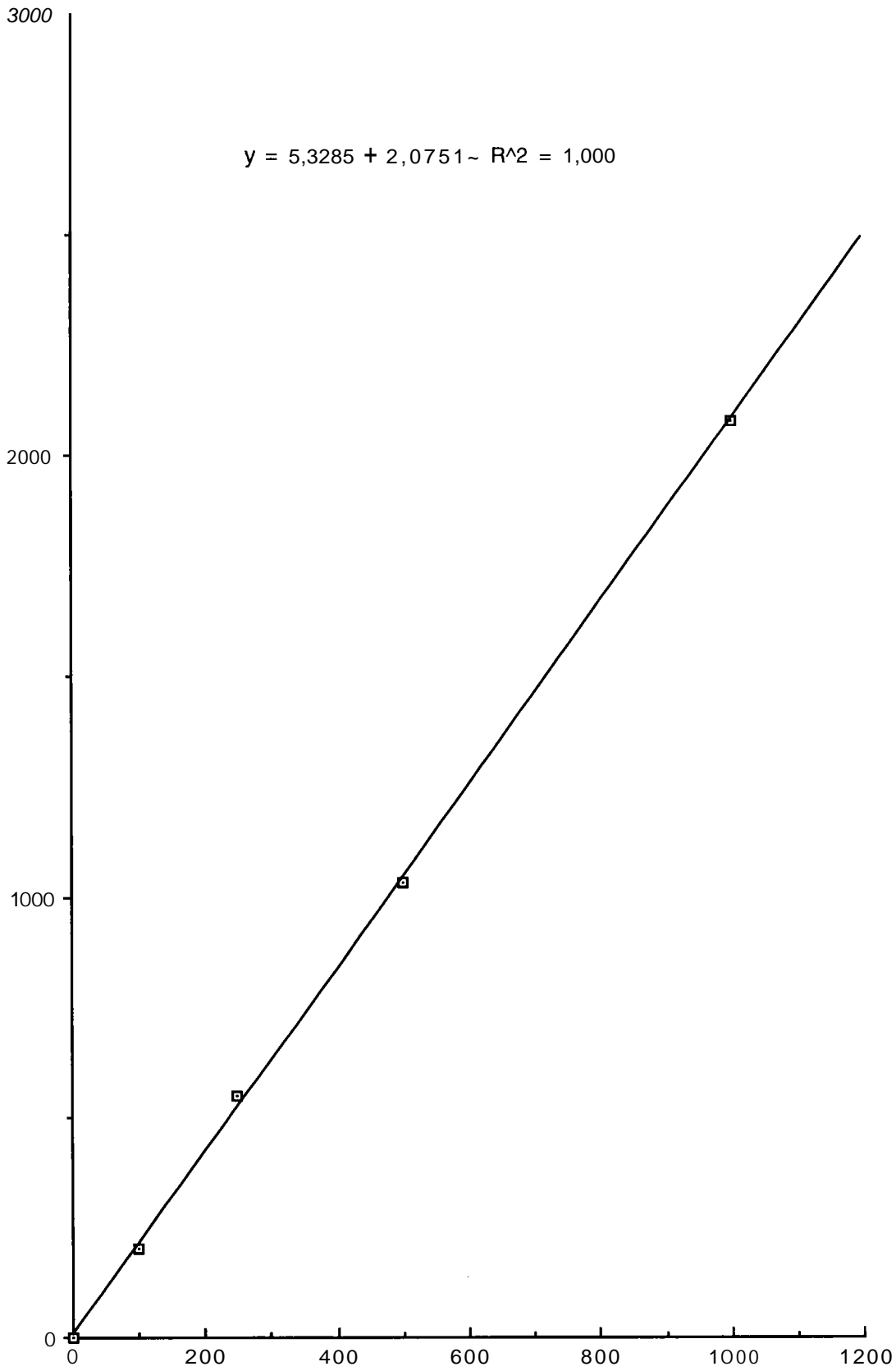


conc ug/l

1ère campagne : courbe d'étalonnage GC-MS
surface = f (conc.)

ISOPROTURON

surface 10-3

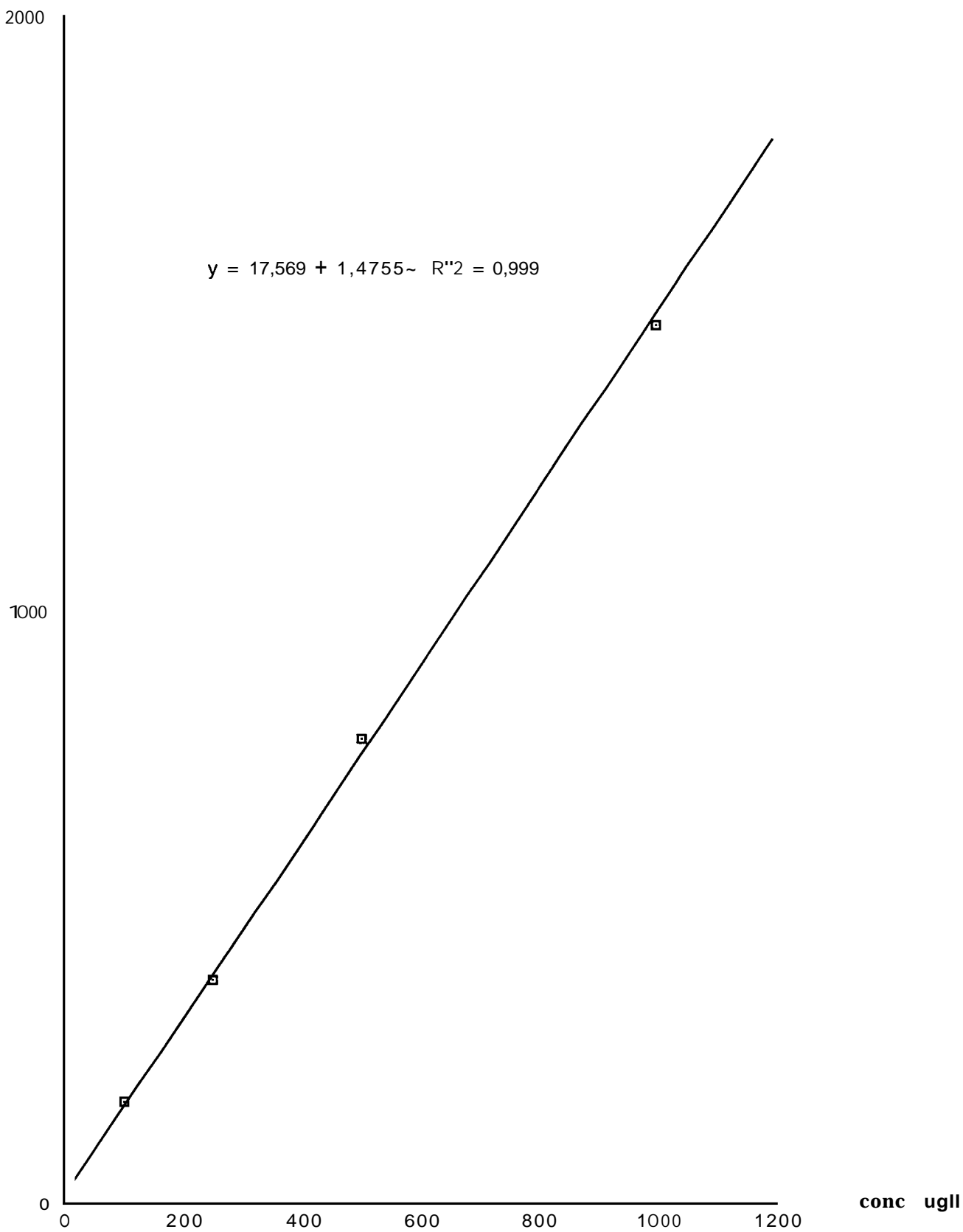


conc ugil

1ère campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

surface 10⁻³

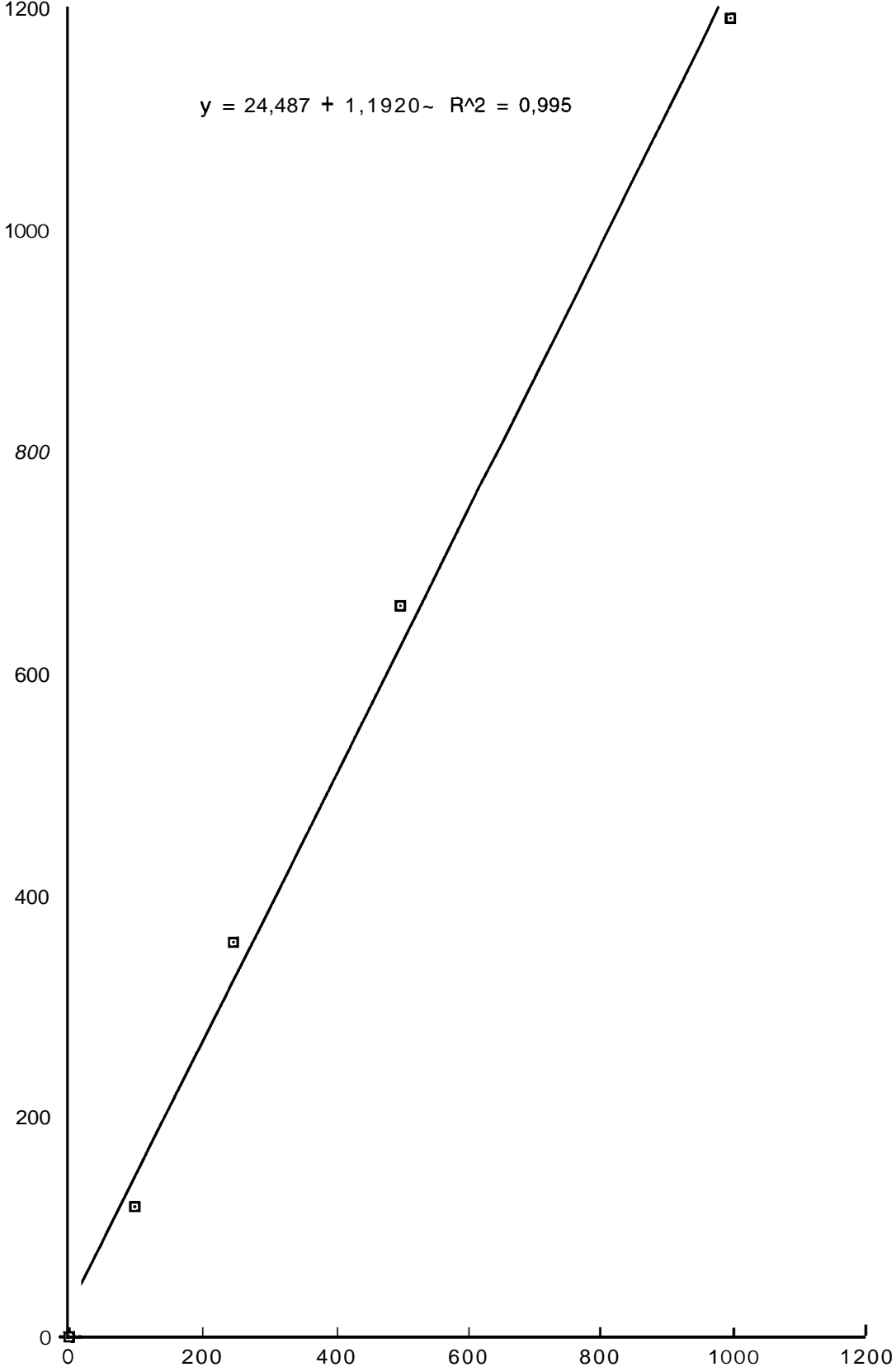
LINURON



lère campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

surface 10-3

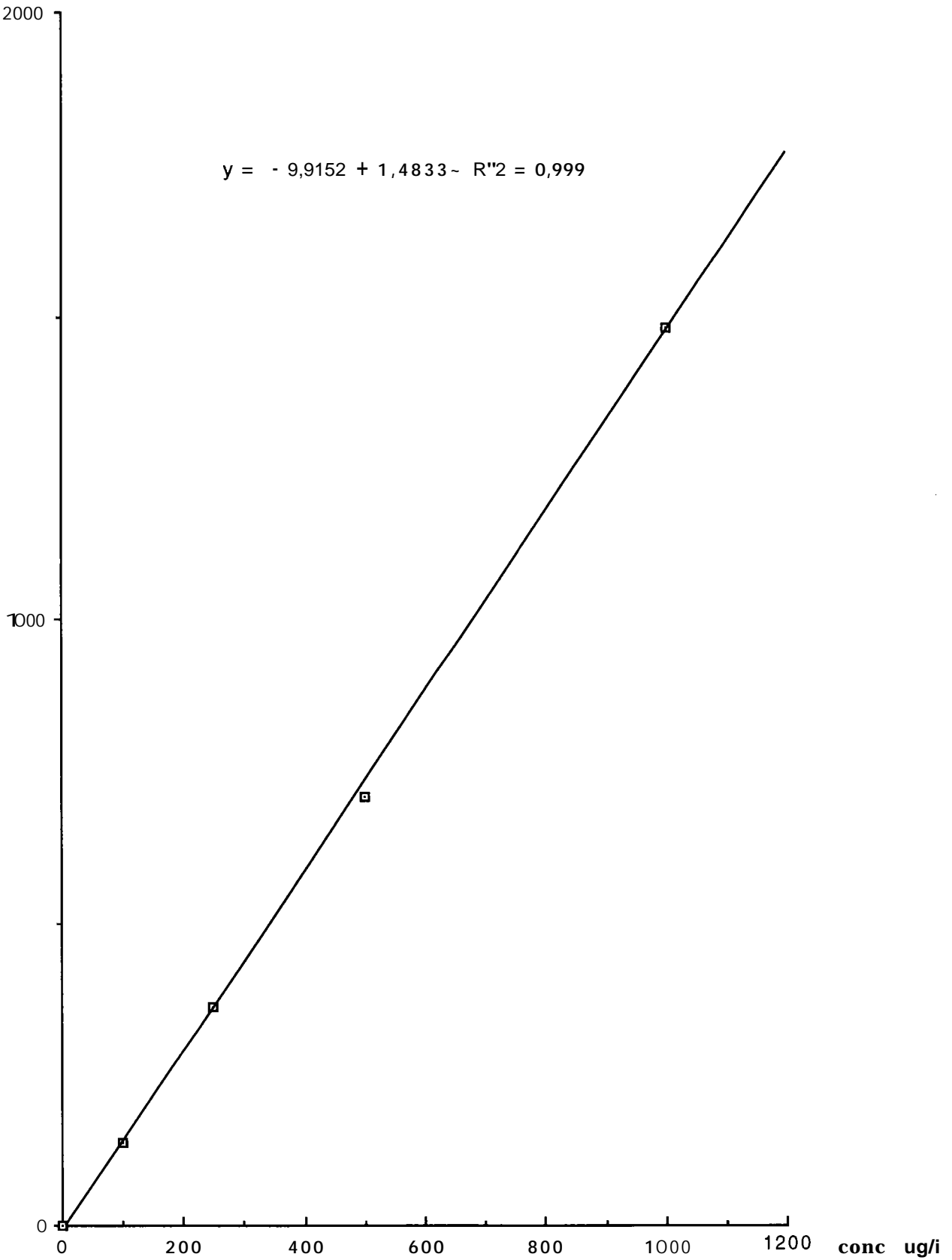
DIURON



lère campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

surface 10-3

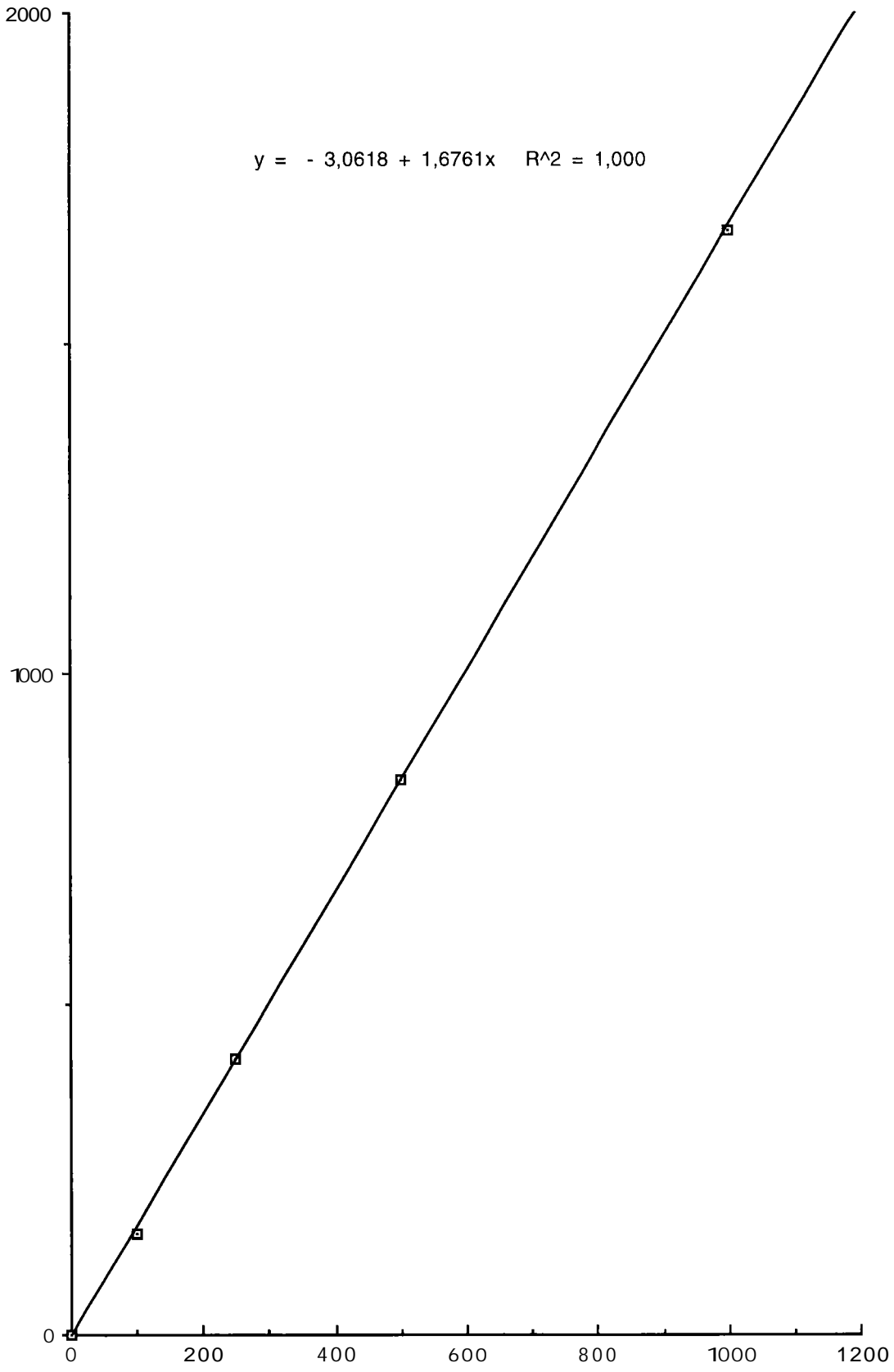
CHLOROTOLURON



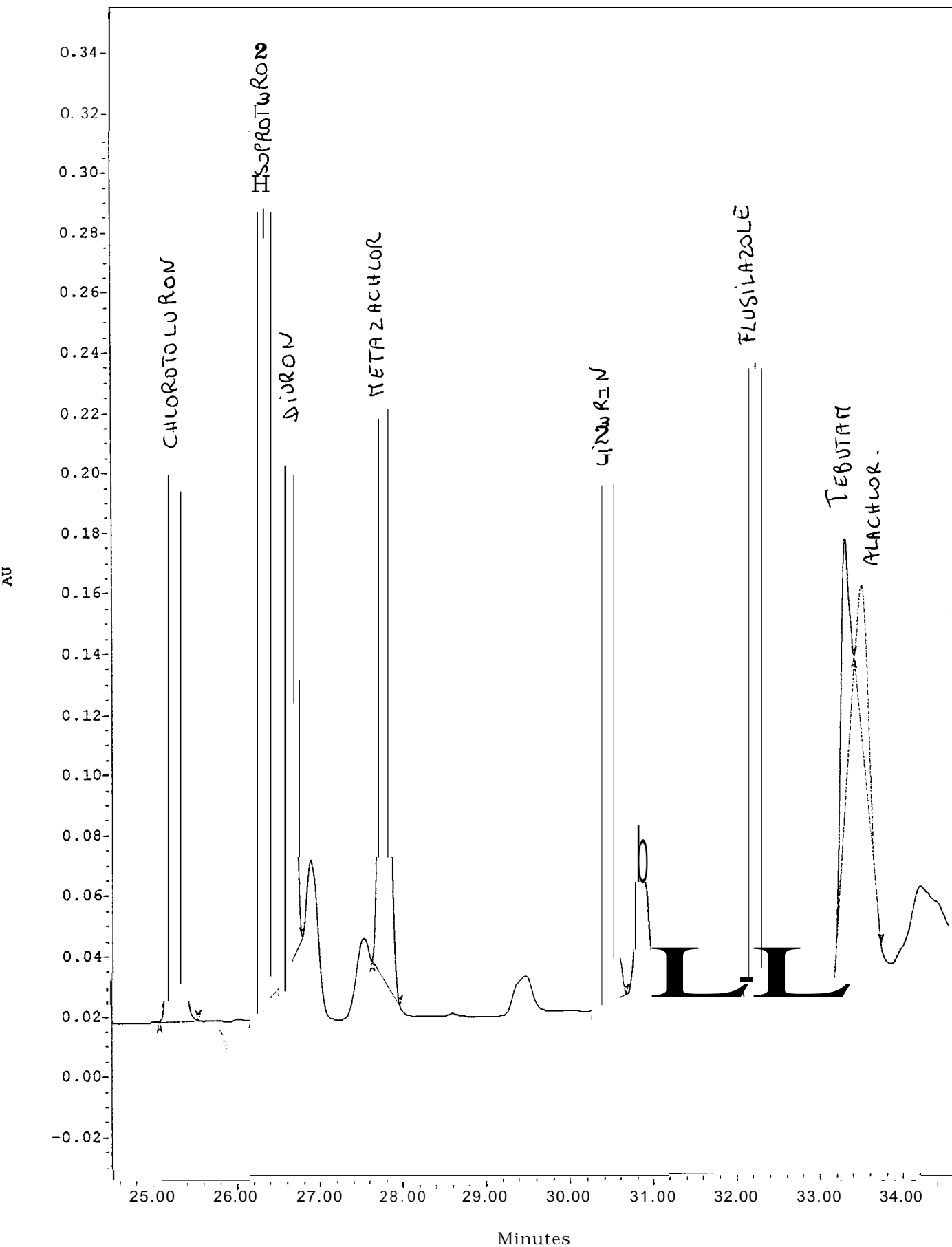
1ère campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

FLUSILAZOLE

surface 10-3



lère carnappne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)



Millennium PDA Chromatogram Plot - SampleName etalon 1, Vial 2, Inj. 1

ère campagne : exemple de chromatogramme obtenu en HPLC Barrette de diode

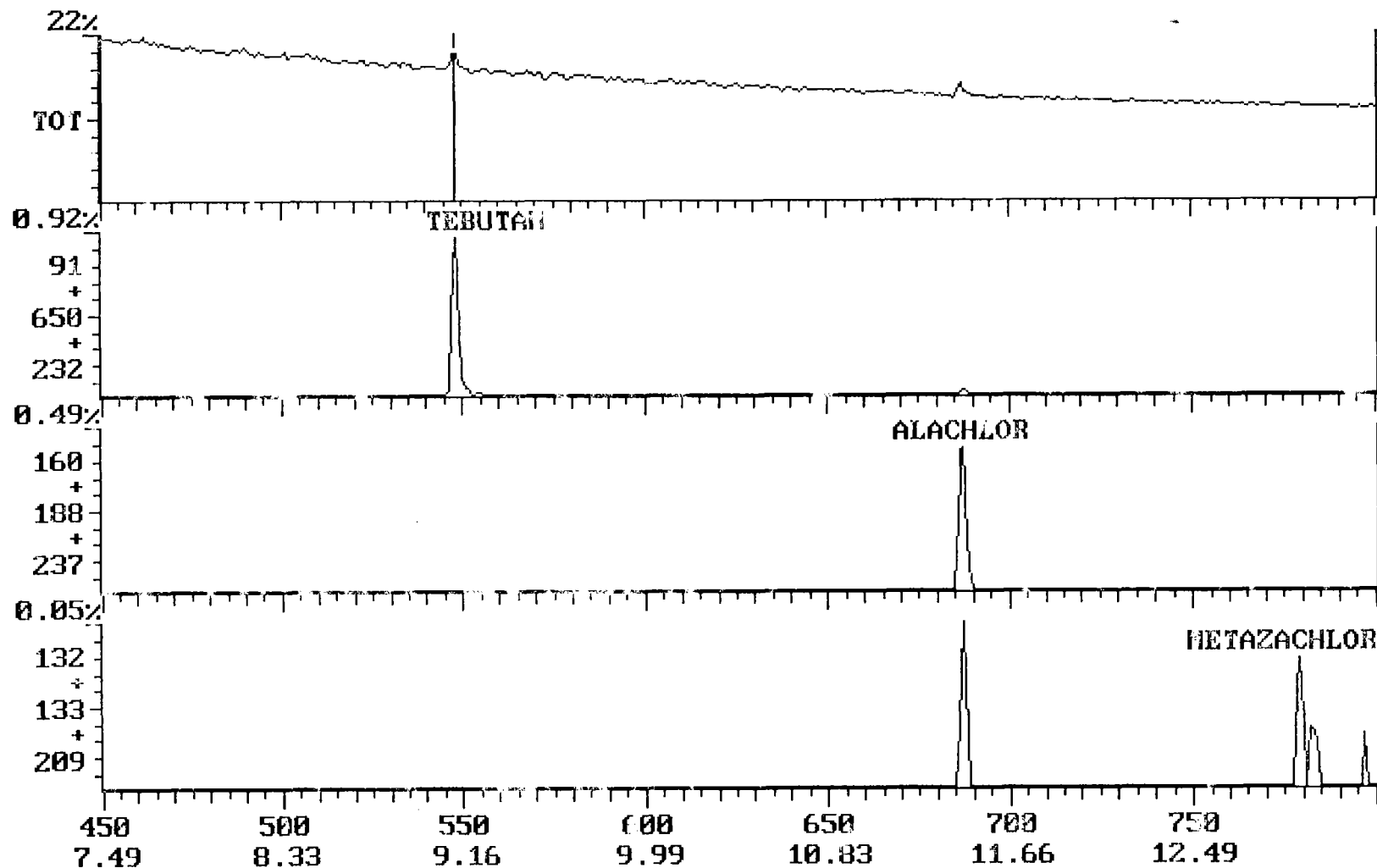
Chromatogram Plot

C:\SATURN\DATA\BERG1000 Date: 11/27/96 13:55:22

Comment: 27/11/96

Scan: 548 Seg: 1 Group: 0 Retention: 9.13 RIC: 579662 Masses: 40-234

Plotted: 450 to 800 Range: 1 to 1554 100% = 2943907



Exemple de chromatogramme étalon obtenu en GC-MS

Chromatogram Plot

C:\SATURN\DATA\BERG1000

Date: 11/27/96 13:55:22

Comment: 27/01/96

Scan: 821 Seg: 1

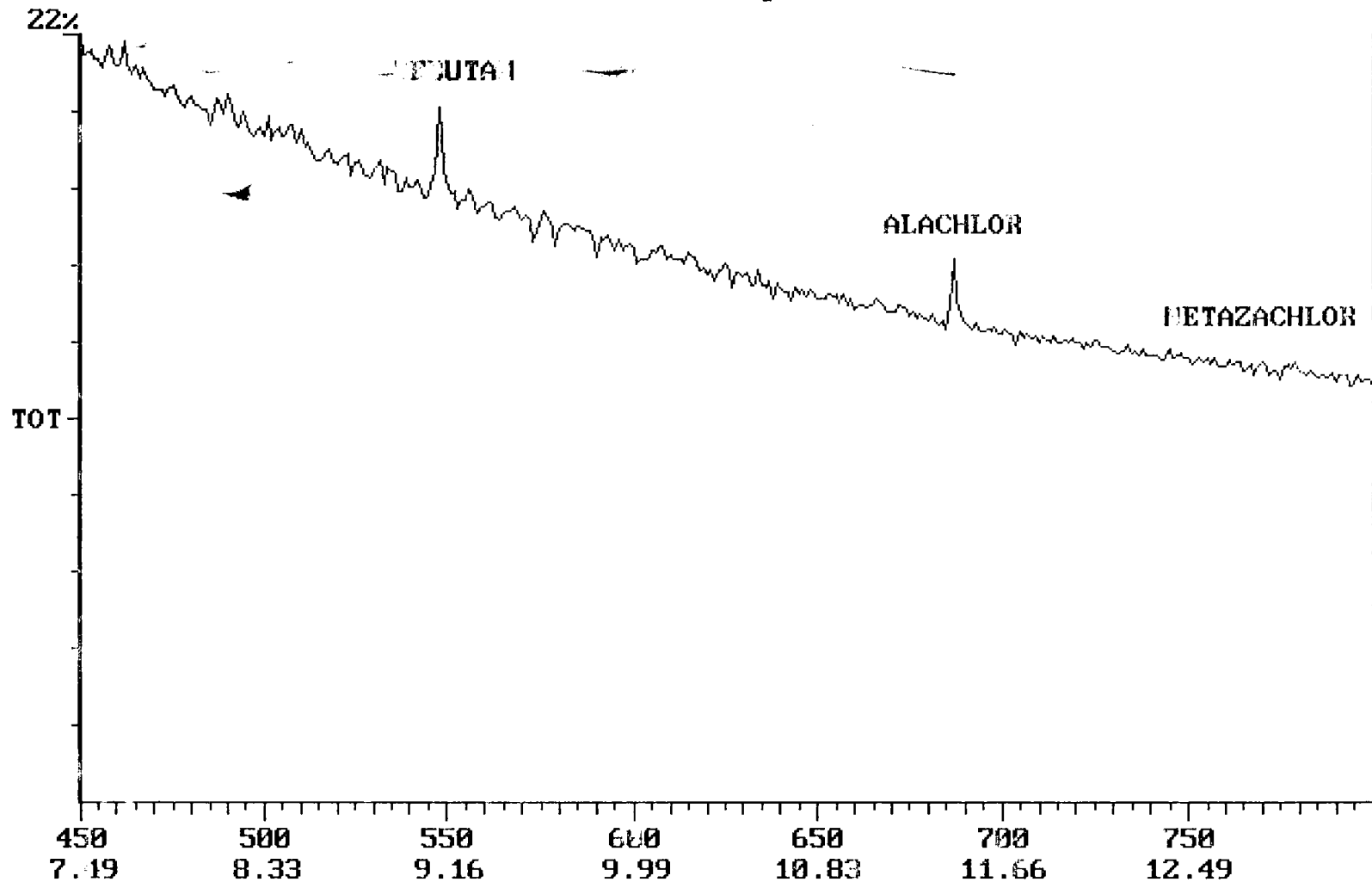
Group: B Retention: 13.33

RIC: 346576 Masses: 40-207

Plotted: 450 to 800

Range: 1 to 1554

100% = 2943907

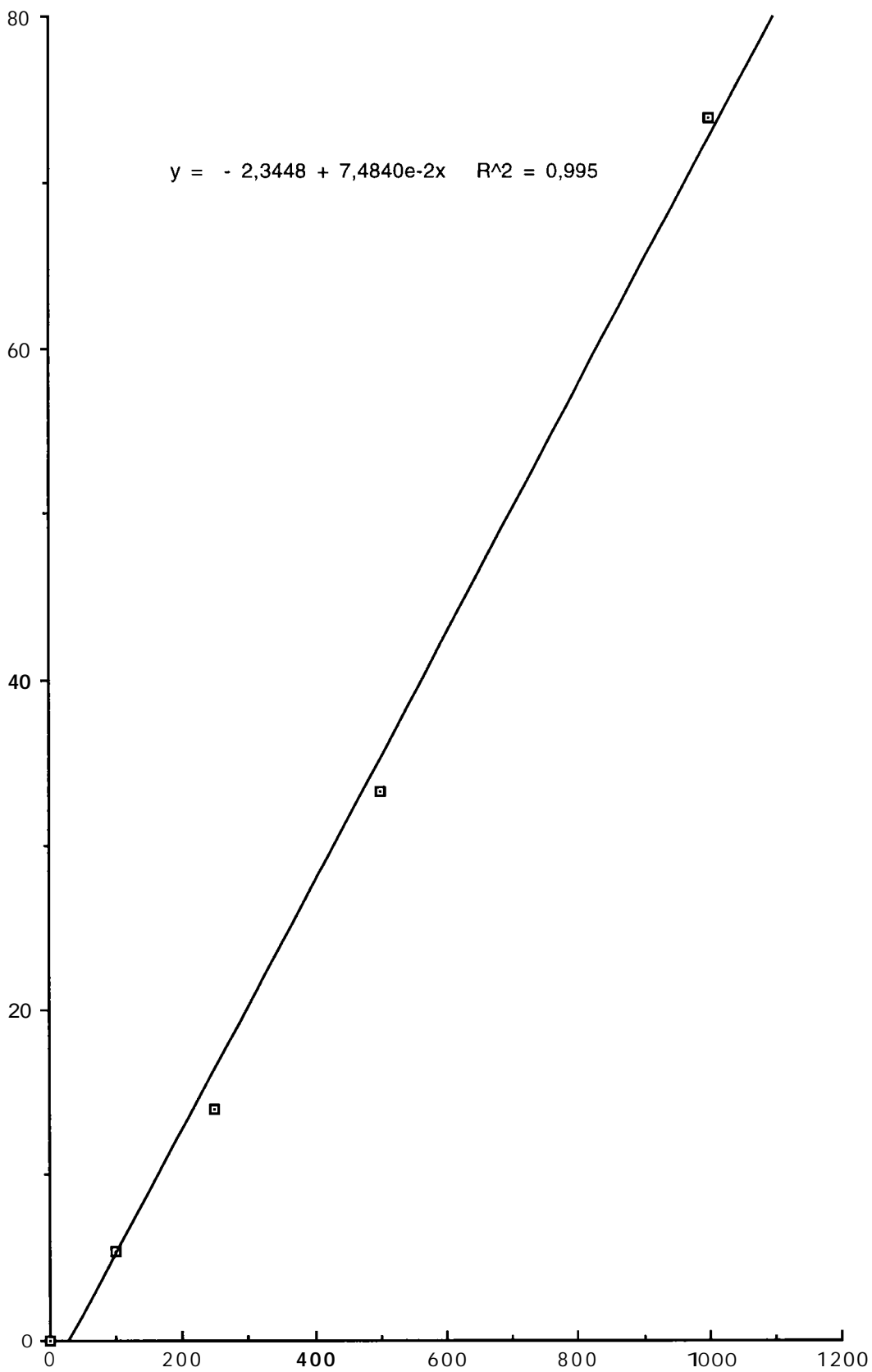


ANNEXES

2ème Campagne

surface 10-3

METAZACHLOR

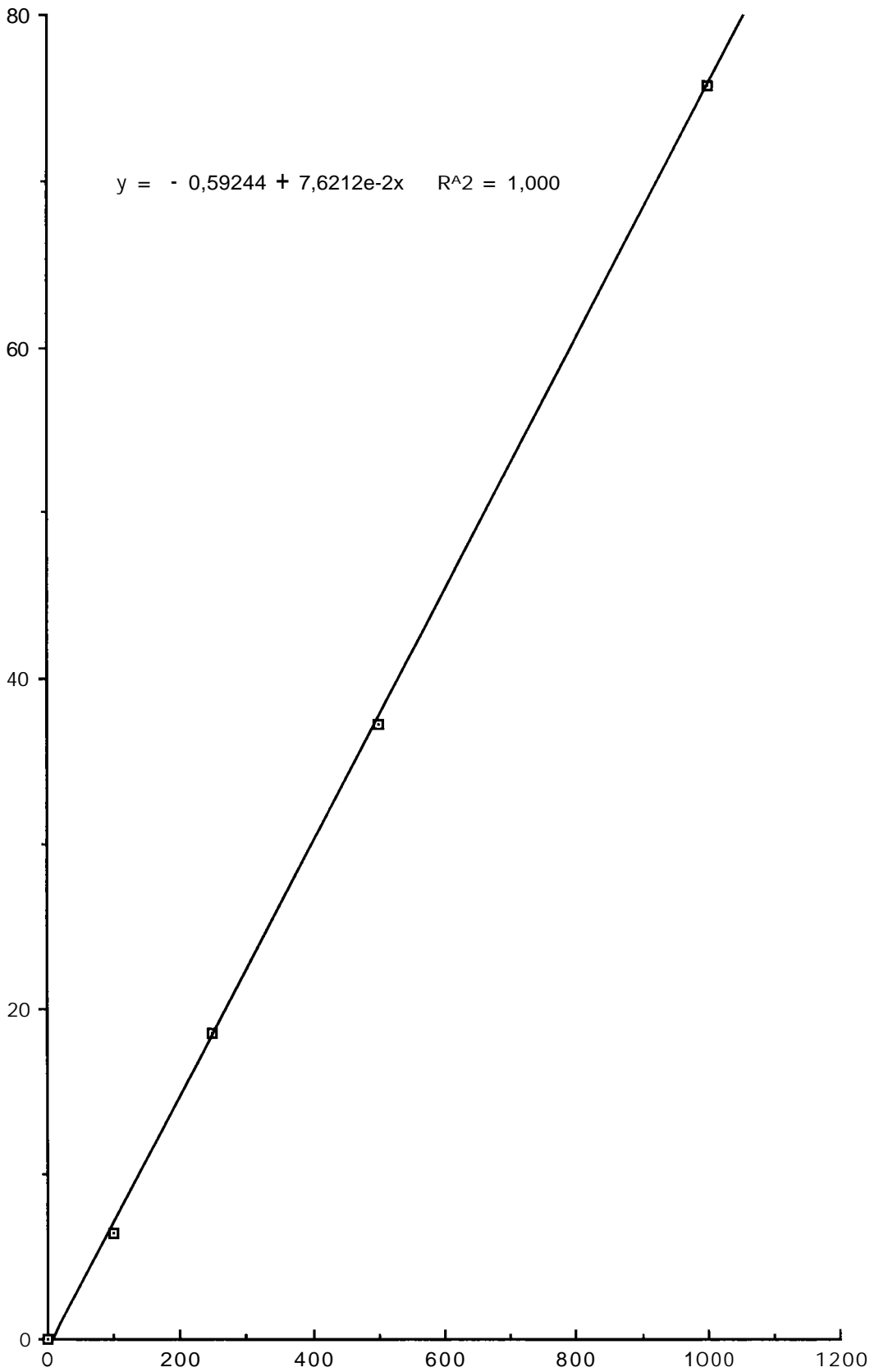


conc ug/l

2ème campagne : courbe d'étalonnage GC-MS
surface = ε (conc.)

ALACHLOR

surface 10-3

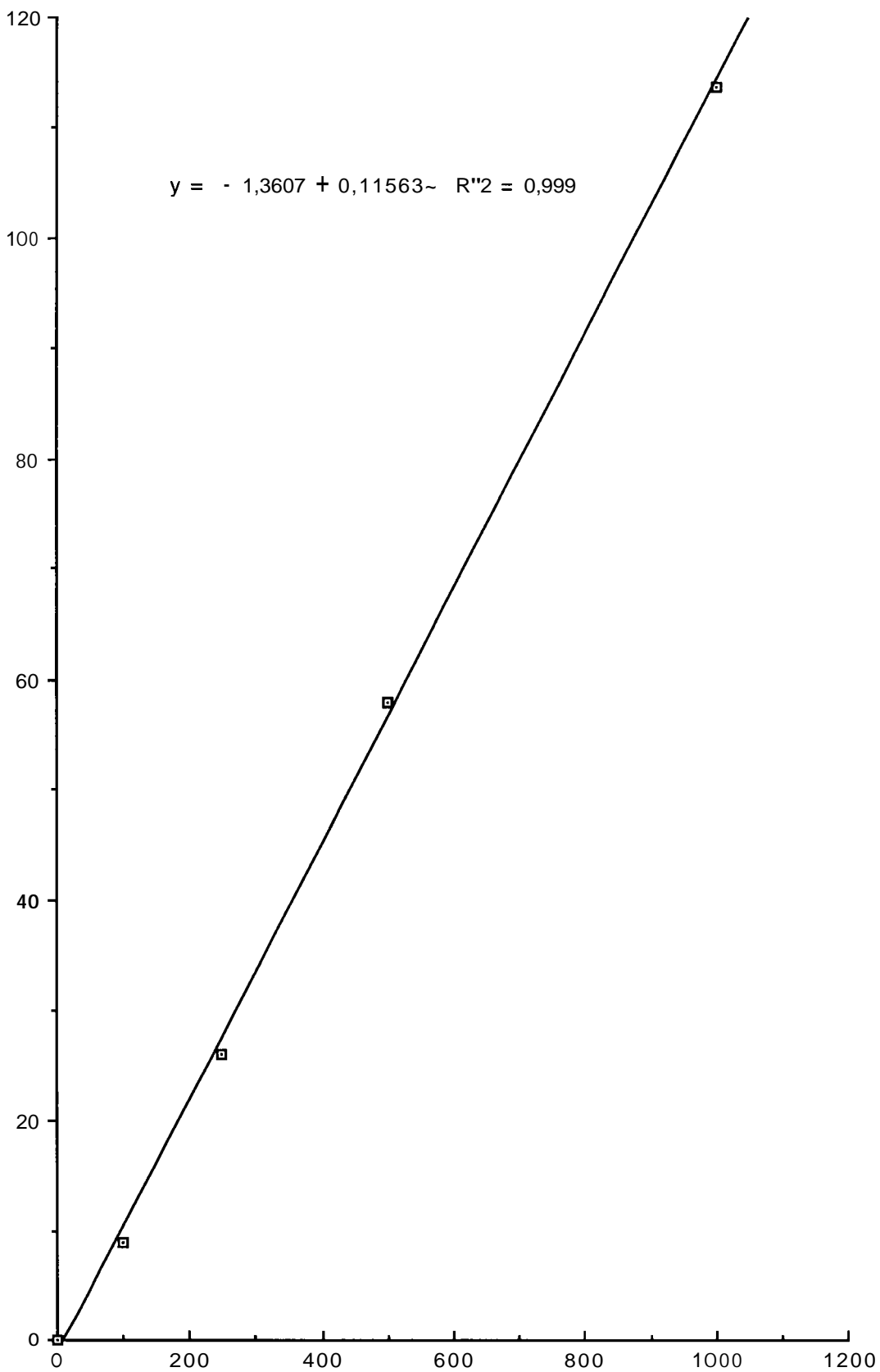


conc ug/l

2ème campagne : courbe d'étalonnage GC-MS
surface = f (conc.)

TEBUTAM

surface 10-3

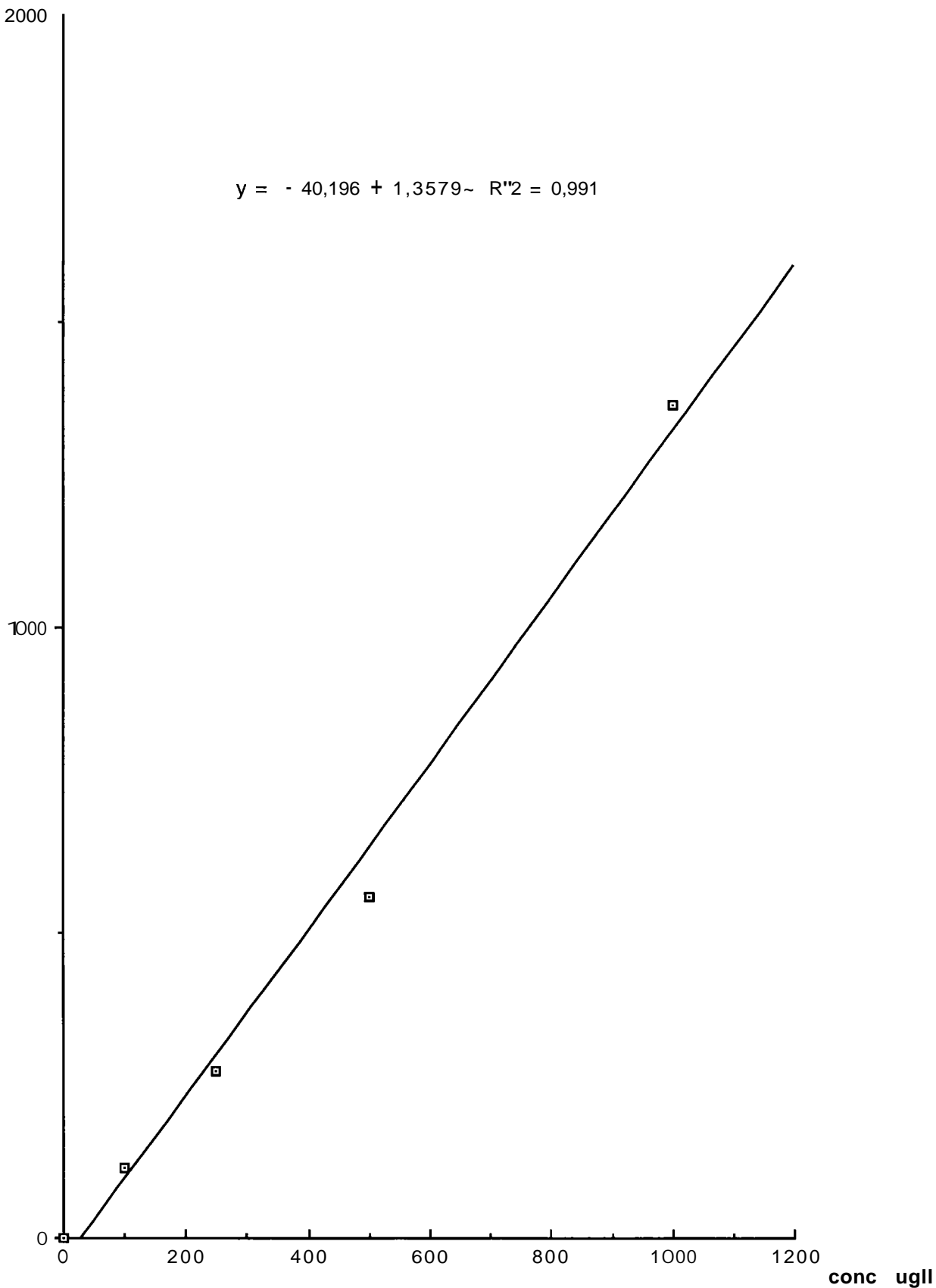


conc ugli

2ème campagne : courbe d'étalonnage GC-MS
surface = f(conc.)

surface 10⁻³

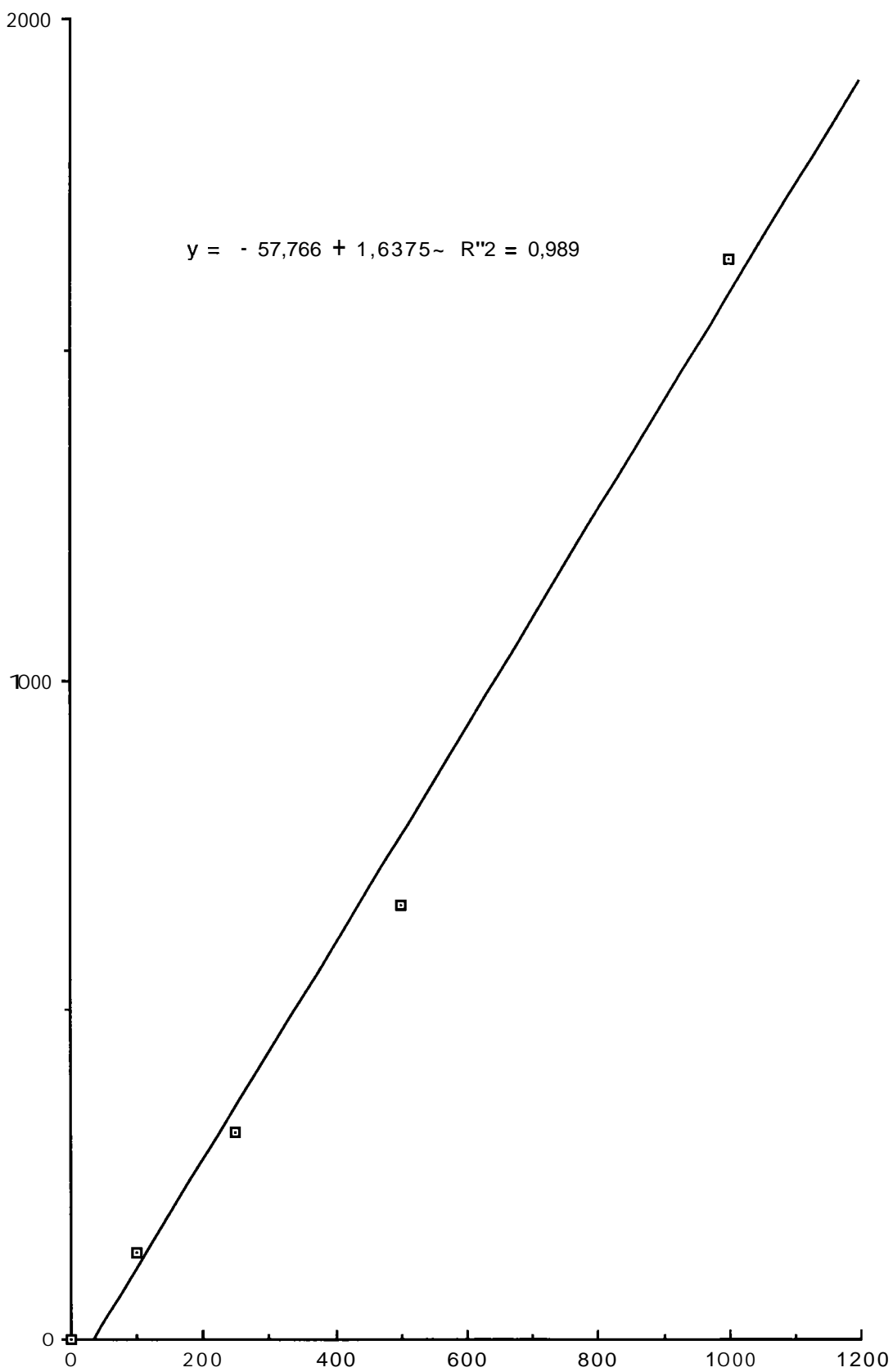
DIURON



2ème campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

surface 10⁻³

FLUSILAZOLE

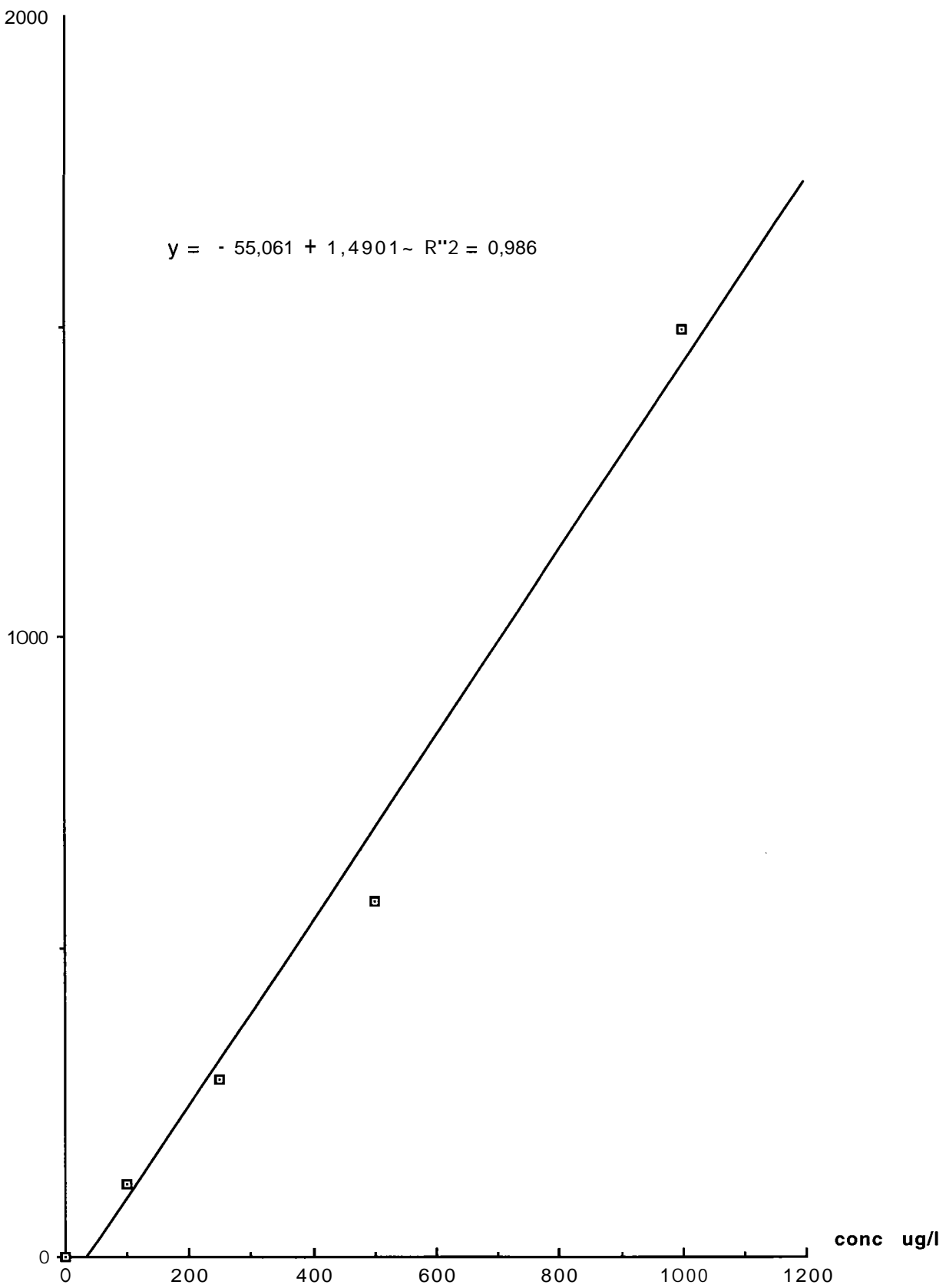


conc ug/l

2ème campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

surface 10-3

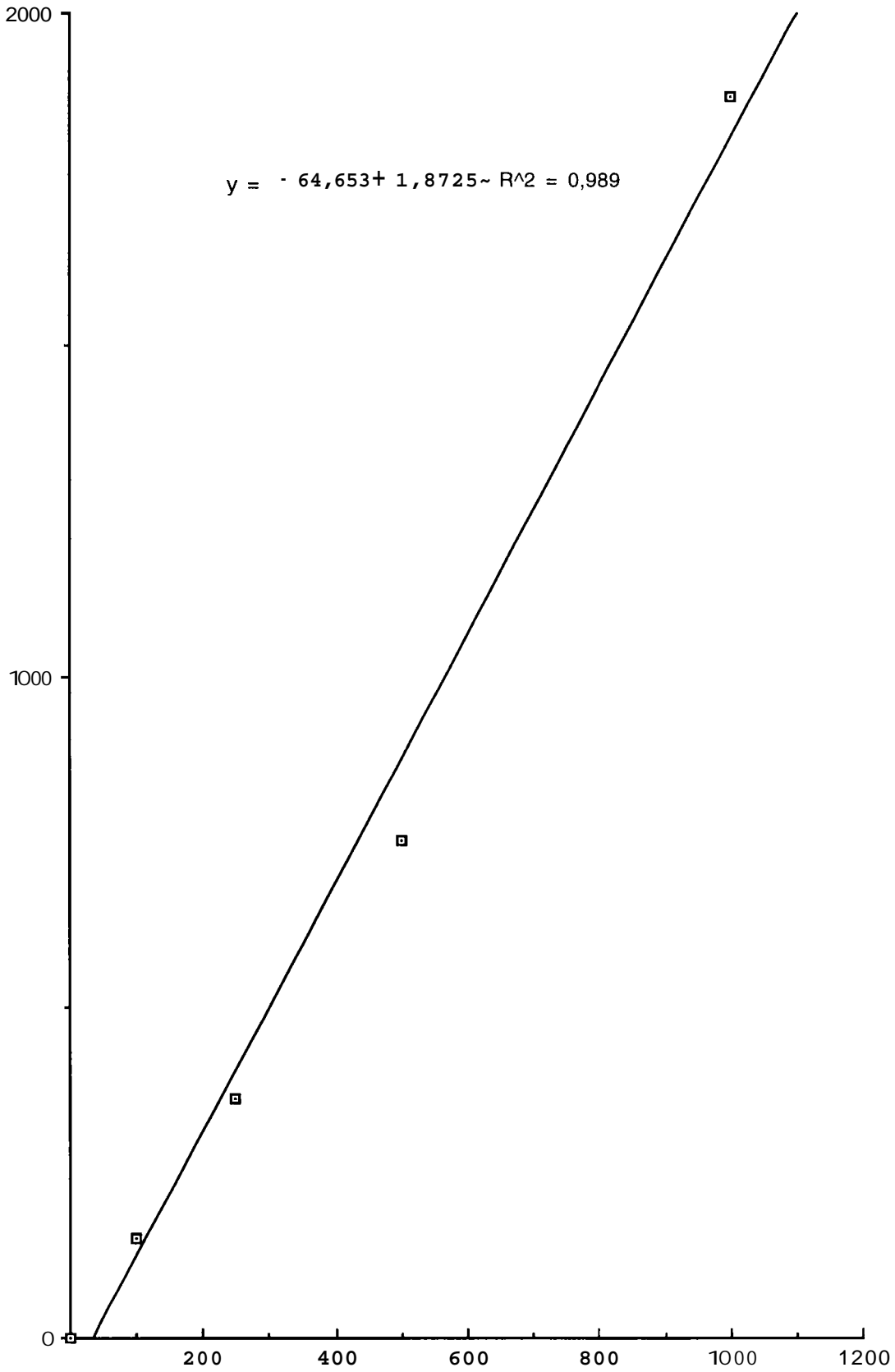
LINURON



2ème campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

CHLOROTOLURON

surface 10⁻³

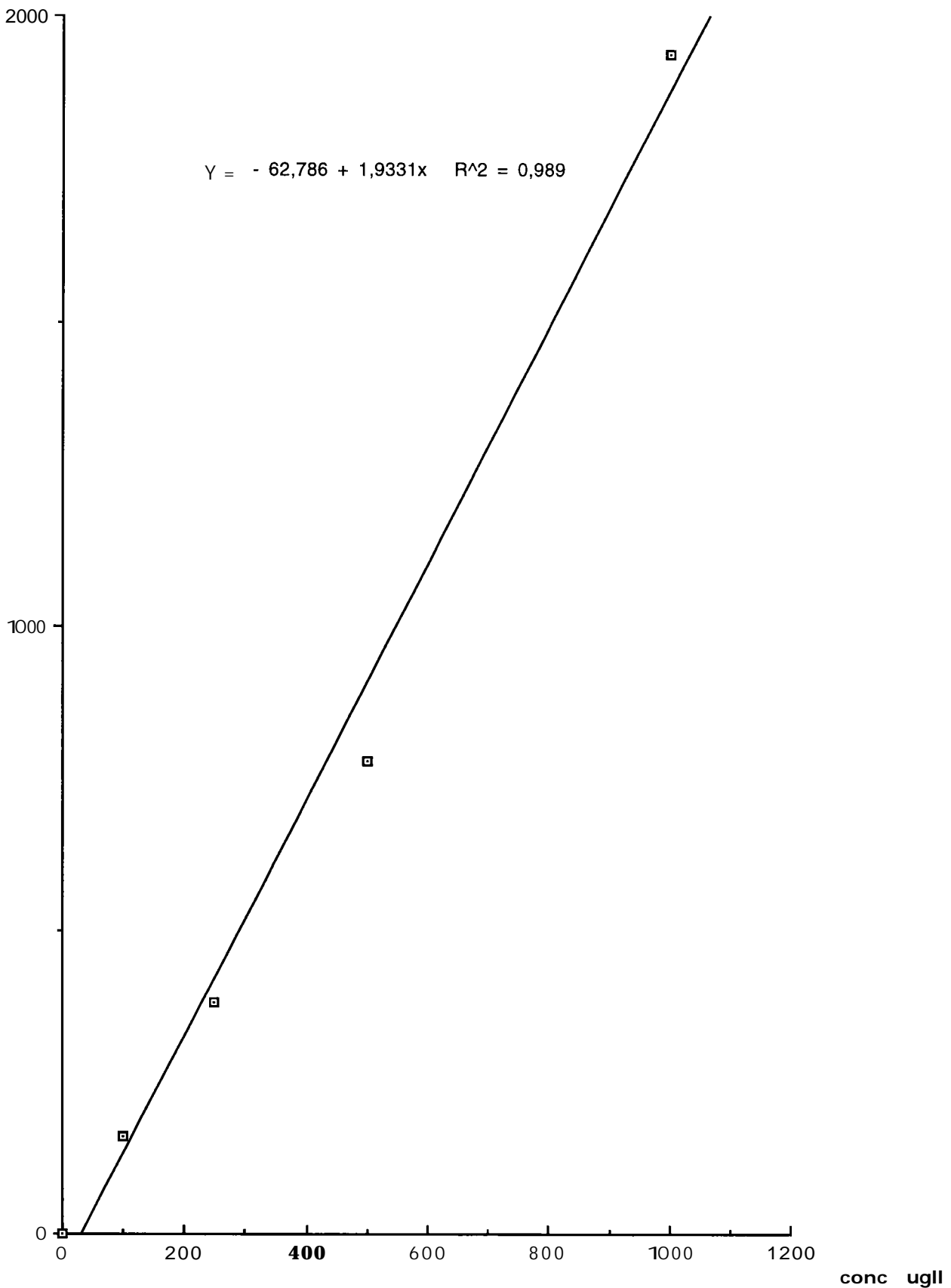


conc ugli

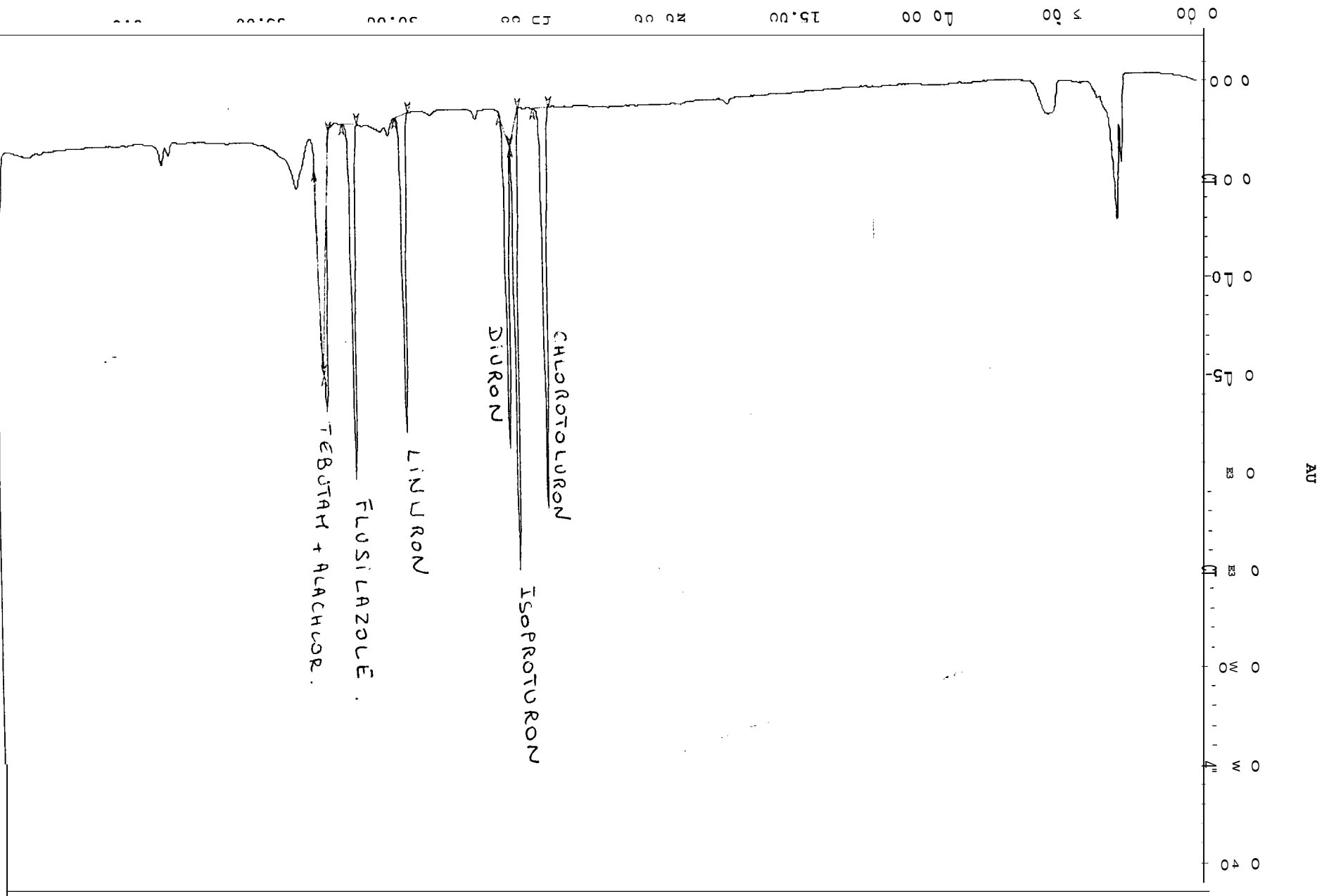
2ème campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)

surface 10-3

ISOPROTURON



2ème campagne : courbe d'étalonnage HPLC
surface = f (conc.)



Exemple de chromatogramme étalon obtenu en HPLC-UV

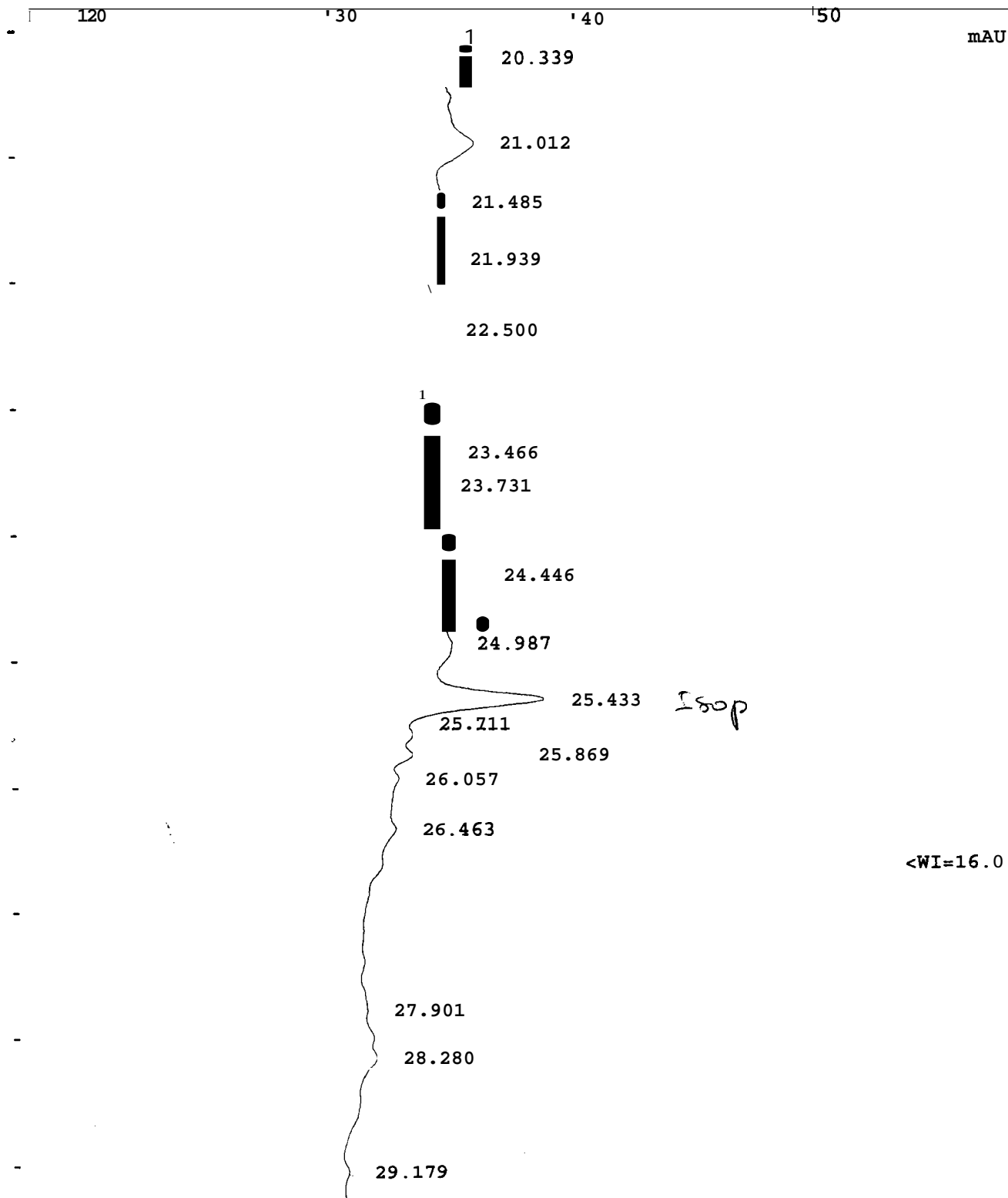
File : C:\STAR\MODULE03\50795076.RUN
Method File : C:\STAR\UREE.MTH
Sample ID : 13695

Injection Date: 5-DEC-96 1:36 PM Calculation Date: 5-DEC-96 2:31 PM

Operator : Detector Type: 9050
Workstation: Bus Address : 3
Instrument : Varian Star #1 Sample Rate : 2.50 Hz
Wavelength : 1 = 202 nm Run Time : 49.980 min

***** Star Chromatography Software ***** Version 4.01 *****

Start Speed = 2.15 cm/min Attenuation = 41 Zero Offset = -45%
Start Time = 20.110 min End Time = 29.410 min Min / Tick = 1.00



<WI=16.0

Chromatogram Plot

C:\SATURN\DATA\12604

Date: 12/11/96 18:20:15

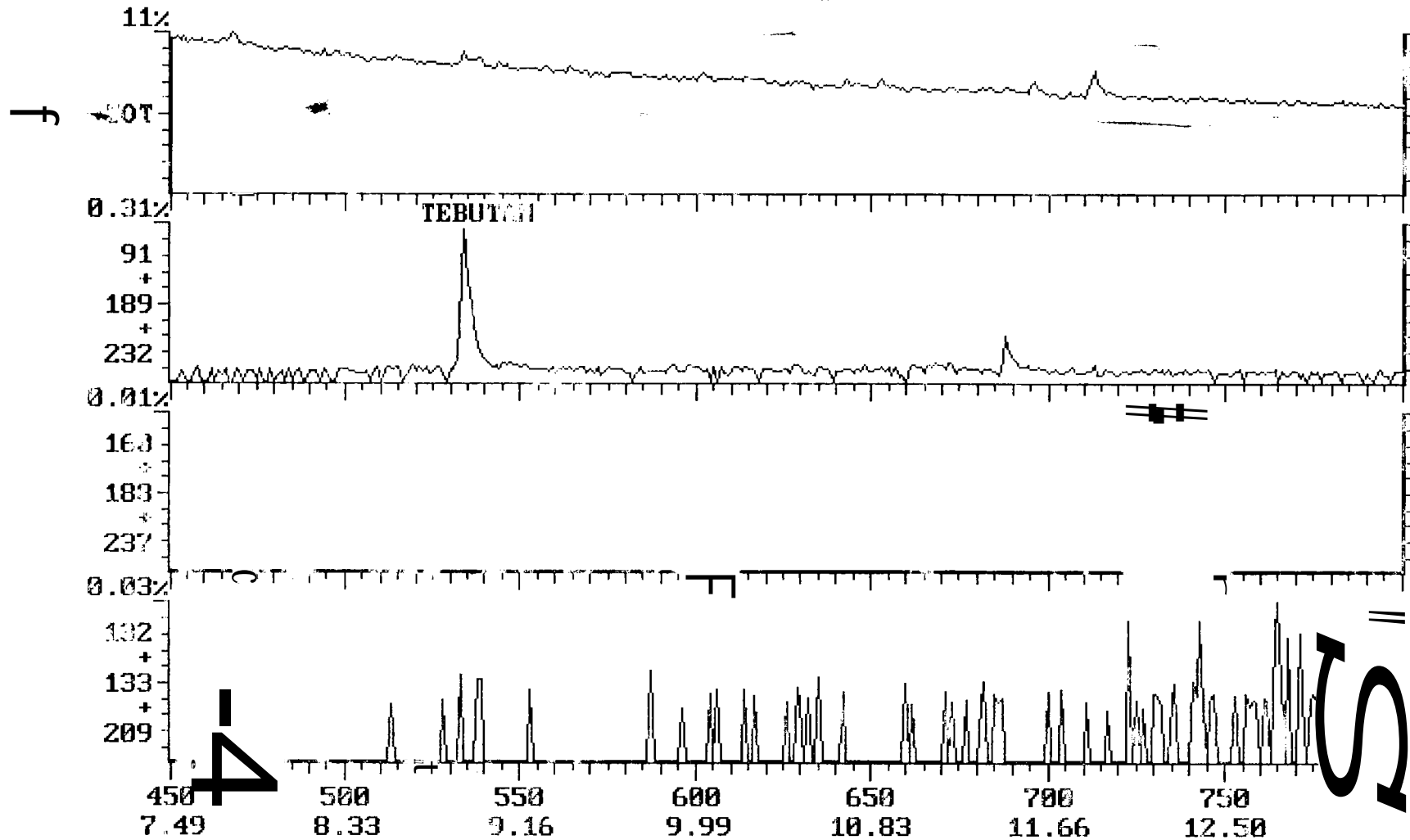
Comment: 10/12/96 BERG CATENOM

Scan: 800 Seg: 1 Group: 0 Retention: 13.33 RIG: 151321 Mass: 207

Plotted: 0 to 800

Range: 1 to 1560

100% = 2443310



Chromatogram obtenu en GC-MS d'un extrait positif