

**THESE**

Présentée à

**L'UNIVERSITE DE STRASBOURG**

Pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG**

Discipline : CHIMIE

Par

**Claude SCHUMMER**

---

**EVALUATION DE L'INTERET DE L'ECHANTILLONNAGE PASSIF D'AIR  
ET DES ANALYSES DE CHEVEUX DANS LE BIOMONITORING DE  
L'EXPOSITION HUMAINE AUX HYDROCARBURES AROMATIQUES  
POLYCYCLIQUES (HAPs) ET AUX PESTICIDES.**

---

Thèse soutenue le 21 septembre 2010 devant

la commission d'examen composée de :

Hélène BUDZINSKI

Rapporteur externe

Gérard LACHATRE

Rapporteur externe

Maurice MILLET

Directeur de thèse

Robert WENNIG

Co-Directeur de thèse

Laurence SABATIER

Examineur interne

Brice APPENZELLER

Examineur

Olivier BRIAND

Examineur

## LISTE DES ABBREVIATIONS ET DES SYMBOLES

ABM	Ambient biomonitoring
ADN	Acide désoxyribonucléique
ASE	Extraction accélérée par solvant (« Accelerated Solvent Extraction »)
BC	Basse concentration
B(c)PhDE	Benzo(c)phénanthrène-3,4-diol-1,2-époxyde
CAR	Carboxène
CID	Dissociation induite par collision (« collision-induced dissociation »)
CITEPA	Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique
CLHP	Chromatographie liquide à haute performance
COV	Composé organique volatil
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CV	Coefficient de variation
DBCP	Dibromochloropropane
DCE	Dichloroéthane
DCM	Dichlorométhane
DDE	Dichlorodiphényldichloroéthène
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DVB	Divinylbenzène
DE	Durée d'exposition
FD	Fréquence de détection
GST	Glutathione S-transférase
HAP	Hydrocarbure aromatique polycyclique
HBM	Human biomonitoring
HC	Haute concentration
HCB	Hexachlorobenzène
HCH	Hexachlorocyclohexane
(S,R)-HFBOPCI	(2S,4R)-4-heptafluorobutoyloxy-N-heptafluorobutyryl-propyle
IAEA	Agence Internationale de l'Energie Nucléaire (« International Atomic Energy Agency »)
IARC	Agence Internationale de la Recherche sur le Cancer (« International Agency for Research on Cancer »)
INERIS	Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
ICN	Ionisation chimique négative
IE	Impact électronique
LD	Limite de détection
LQ	Limite de quantification
MRM	« Multiple Reaction Monitoring »
MtBSTFA	N-méthyl-N-(tert-butyl-diméthyl-silyl)trifluoroacétamide
NAT	N-acétyltransférase
OH-HAP	Hydroxy-HAP (hydrocarbure aromatique polycyclique hydroxylé)
PCDD	Dibenzo-p-dioxine polychloré (« polychlorinated dibenzo-p-dioxin »)
PCDF	Dibenzofurane polychloré (« polychlorinated dibenzo-furane »)
PCP	Pentachlorophénol

PCB	Biphényl polychloré (« polychlorinated biphenyl »)
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PFFA	Anhydride pentafluoropropionique (« pentafluoropropionic anhydride »)
POP	Polluant organique persistant
PUF	Mousse de polyuréthane (« polyurethane foam »)
SM	Spectrométrie de masse
SPME	Microextraction en phase solide (« Solid-Phase Microextraction »)
TFAA	Anhydride trifluoroacétique (« trifluoroacetic anhydride »)
US-EPA	Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (« United States Environmental Protection Agency »)
WHO	Organisation mondiale de la santé (« World Health Organization »)
$\rho$	Rendement
$R^2$	Coefficient de corrélation
$\Sigma$	Somme
$t_r$	Temps de rétention
Nap	Naphtalène
AcPy	Acénaphtylène
AcP	Acénaphène
Flu	Fluorène
Phe	Phénanthrène
Ant	Anthracène
Fluo	Fluoranthène
Pyr	Pyrène
BaA	Benzo(a)anthracène
BcP	Benzo(c)phénanthrène
Chr	Chrysène
DBA	Dibenzo(a,h)anthracène
BbFL	Benzo(b)fluoranthène
BkFL	Benzo(k)fluoranthène
BaP	Benzo(a)pyrène
InP	Indéno(1,2,3-c,d)pyrène
BghiP	Benzo(g,h,i)pérylène
1-OHNap	1-hydroxynaphtalène
2-OHNap	2-hydroxynaphtalène
2-OHFlu	2-hydroxyfluorène
9-OHFlu	9-hydroxyfluorène
1-OHPhe	1-hydroxyphénanthrène
2-OHPhe	2-hydroxyphénanthrène
3-OHPhe	3-hydroxyphénanthrène
4-OHPhe	4-hydroxyphénanthrène
9-OHPhe	9-hydroxyphénanthrène
1-OHPyr	1-hydroxypyrene
2-OHBcP	2-hydroxybenzo(c)phénanthrène
6-OHChr	6-hydroxychrysène

## TABLE DES MATIERES

<b>Chapitre 1 : Introduction</b>	<b>1</b>
I.1. Biomonitoring de l'exposition humaine aux polluants organiques	5
I.1.1. Le « Ambient Biomonitoring » (ABM)	6
I.1.1.1. L'échantillonnage actif	7
I.1.1.2. L'échantillonnage passif	8
I.1.2. Le « Human Biomonitoring » (HBM)	12
I.1.2.1. Les matrices biologiques invasives	13
I.1.2.2. Les matrices biologiques non-invasives	15
I.2. Le biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides	19
I.2.1. Les HAPs	19
I.2.1.1. Origines et formation des HAPs	19
I.2.1.2. L'exposition humaine aux HAPs	20
I.2.1.3. Effets engendrés par l'exposition chronique aux HAPs	21
I.2.1.4. Etat de l'art du biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs	23
I.2.1.5. Limitations du biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs à l'heure actuelle	26
I.2.2. Les pesticides	27
I.2.2.1. Origines et formation des pesticides	27
I.2.2.2. Sources de l'exposition humaine aux pesticides	28
I.2.2.3. Effets engendrés par l'exposition aux pesticides	29
I.2.2.4. Etat de l'art du biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides	30
I.2.2.5. Limitations du biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides à l'heure actuelle	34
I.3. Les objectifs de ces travaux de thèse	36
I.3.1. Les objectifs du biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs	36
I.3.2. Les objectifs du biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides	41
<b>Chapitre II : L'exposition humaine aux HAPs</b>	<b>45</b>
II.1. Analyse des HAPs et OH-HAPs dans l'air à l'aide de capteurs passifs	46
II.1.1. Echantillonnage	46
II.1.1.1. Durée d'exposition des capteurs	46
II.1.1.2. Sites de prélèvement	47
II.1.1.3. Périodicité des changements des capteurs	49
II.1.1.4. Extraction et concentration des échantillons atmosphériques	50
II.1.1.4.1. L'ASE	50
II.1.2. Détermination des HAPs sur les capteurs	52
II.1.2.1. Analyse des HAPs	52
II.1.2.2. Validation de la méthode d'analyse	54
II.1.2.3. Dosage des HAPs dans les extraits des capteurs	58
II.1.2.3.1. Variations en fonction du site de prélèvement	61
II.1.2.3.2. Variations en fonction de la durée d'échantillonnage	63
II.1.2.3.3. Variations en fonction du temps	64
II.1.2.3.4. Variations en fonction de la température	68
II.1.3. Détermination des OH-HAPs sur les capteurs	72

II.1.3.1. Instrumentation	73
II.1.3.2. Dérivation des OH-HAPs	74
II.1.3.2.1. Influence de la quantité de (S,R)-HFBOPCI	74
II.1.3.2.2. Influence du pH du milieu réactionnel	75
II.1.3.2.3. Influence du temps de réaction	76
II.1.3.2.4. Conditions optimales de dérivation des OH-HAPs	77
II.1.3.3. Validation de la méthode d'analyse	79
II.1.3.4. Dosage des OH-HAPs dans les extraits des capteurs	81
II.1.3.4.1. Variations en fonction du site de prélèvement	82
II.1.3.4.2. Variations en fonction du temps	84
II.1.4. Conclusions	86
II.2. Détermination des OH-HAPs dans les cheveux	87
II.2.1. Analyse des OH-HAPs	87
II.2.1.1. Instrumentation	87
II.2.1.2. Préparation des échantillons de cheveux	88
II.2.1.3. Influence d'une étape de lavage des cheveux	90
II.2.1.4. Influence d'une étape de déglucuronidation	92
II.2.1.5. Validation de la méthode	93
II.2.2. Détermination des OH-HAPs dans les cheveux humains	96
II.2.2.1. Collecte d'échantillons	96
II.2.2.2. Analyse des échantillons de cheveux collectés	97
II.2.3. Conclusions sur l'intérêt des analyses de cheveux pour mettre en évidence l'exposition humaine aux HAPs	99
II.3. Conclusions générales du chapitre II	100
<b>Chapitre III : L'exposition humaine aux pesticides</b>	<b>101</b>
III.1. Analyse des pesticides dans l'air à l'aide de capteurs passifs	102
III.1.1. Rappels sur l'échantillonnage	102
III.1.2. Analyse des pesticides	103
III.1.2.1. Préconcentration des analytes par SPME	103
III.1.2.2. Analyse par CPG-SM/SM	109
III.1.3. Validation de la méthode d'analyse	113
III.1.4. Dosage des pesticides dans les extraits des capteurs	117
III.1.4.1. Variations en fonction du site de prélèvement	121
III.1.4.2. Variations en fonction du temps	122
III.1.5. Conclusions	125
III.2. Détermination des pesticides dans les cheveux	126
III.2.1. Analyse des pesticides	126
III.2.1.1. Analyse par CPG-SM/SM	127
III.2.1.2. Préparation des échantillons de cheveux	129
III.2.1.3. Optimisation des conditions SPME	130
III.2.1.4. Influence d'une étape de lavage des cheveux	131
III.2.1.5. Validation de la méthode	134
III.2.2. Détermination des pesticides dans les cheveux de personnes exposées aux pesticides par leur profession	138
III.2.2.1. Echantillonnage des cheveux et population étudiée	139
III.2.2.2. Analyse des échantillons de cheveux collectés	141

III.2.2.2.1. Variations des concentrations en fonction des personnes	144
III.2.2.3. Evaluation de l'intérêt des cheveux pour mettre en évidence l'historique d'une exposition aux pesticides	148
III.2.2.3.1. Segmentation des échantillons de cheveux de deux personnes	148
III.2.2.3.2. Variations des concentrations dans les cheveux en fonction du temps	154
III.2.3. Conclusions	157
III.3. Conclusions générales du chapitre III	159
<b>Chapitre IV : Conclusions et perspectives</b>	<b>160</b>
IV.1. Conclusions	161
IV.2. Perspectives	166
IV.2.1. Perspectives directes	166
IV.2.2. Perspectives à moyen terme	167
<b>Chapitre V : Références</b>	<b>168</b>
<b>Chapitre VI : Annexes</b>	<b>192</b>
VI.1. Structures développées des pesticides étudiés	193

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Structures, noms et abréviations des HAPs analysés dans l'air	37
Tableau I.2 : Formules développées, noms et abréviations des OH-HAPs recherchés dans les cheveux et sur les capteurs passifs	39
Tableau I.3 : Noms, modes d'action et classes chimiques des pesticides analysés	42
Tableau II.1 : Périodes d'échantillonnage aux différents sites	50
Tableau II.2 : Conditions de l'analyse en spectrométrie de masse des HAPs	54
Tableau II.3 : Paramètres de validation de l'analyse des HAPs	57
Tableau II.4 : Concentrations d'HAPs, médianes et fréquences de détection aux cinq sites	59
Tableau II.5 : Quantités annuelles moyennes par site et par composé	61
Tableau II.6 : Comparaison des quantités totales en HAPs mesurées sur les capteurs, en fonction de la durée d'exposition du capteur	63
Tableau II.7 : Moyennes mensuelles des quantités d'HAPs sur les capteurs et valeurs P des comparaisons des moyennes	65
Tableau II.8.a : Valeurs P des corrélations entre la quantité d'HAP sur le capteur et la température moyenne sur toute la période d'échantillonnage	69
Tableau II.8.b : Valeurs P des corrélations entre la quantité d'HAP sur le capteur et la température moyenne au jour de récupération du capteur	69
Tableau II.9 : Paramètres analytiques de la méthode CPG-SM de l'analyse des OH-HAPs dérivés	74
Tableau II.10 : Paramètres de validation de l'analyse des OH-HAPs sur les capteurs passifs	80
Tableau II.11 : Concentrations des trois OH-HAPs détectés sur les capteurs et fréquences de détection aux différents sites	82
Tableau II.12 : Quantités moyennes annuelles par site et par composé détecté	83
Tableau II.13 : Quantités moyennes mensuelles pour les cinq sites confondus pour le 1-OHNap et le 2-OHNap, et valeurs P des comparaisons des moyennes	84
Tableau II.14 : Paramètres de validation de la méthode	95
Tableau II.15 : Résultats des analyses des échantillons de cheveux en nmol/g	97

Tableau III.1 : Paramètres de l'analyse SM/SM des pesticides	112
Tableau III.2 : Paramètres de validation de la méthode d'analyse	114
Tableau III.3 : Quantités de pesticides mesurées sur les capteurs et fréquence de détection aux différents sites	118
Tableau III.4 : Quantités annuelles moyennes, par site et par composé	121
Tableau III.5 : Concentrations mensuelles moyennes de tous les pesticides confondus, par site et pour les cinq sites confondus	122
Tableau III.6 : Paramètres de l'analyse SM/SM des pesticides	128
Tableau III.7 : Paramètres de validation de la méthode d'analyse et modes d'injection des pesticides	135
Tableau III.8 : Comparaison des limites de détection de la présente étude avec celles d'autres études	137
Tableau III.9 : Pesticides détectés dans les échantillons de cheveux, fréquences de détection des pesticides, concentrations minimales et maximales, médianes des concentrations	141
Tableau III.10 : Concentrations moyennes par composé et par sujet	145
Tableau III.11 : Concentrations moyennes par mois et par composé	155
Tableau IV.1 : Les acquis de ces travaux de thèse en ce qui concerne l'ABM de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides et les limitations de ces acquis à l'heure actuelle	162
Tableau IV.2 : Les acquis de ces travaux de thèse en ce qui concerne le HBM de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides et les limitations de ces acquis à l'heure actuelle	164



## LISTE DES FIGURES

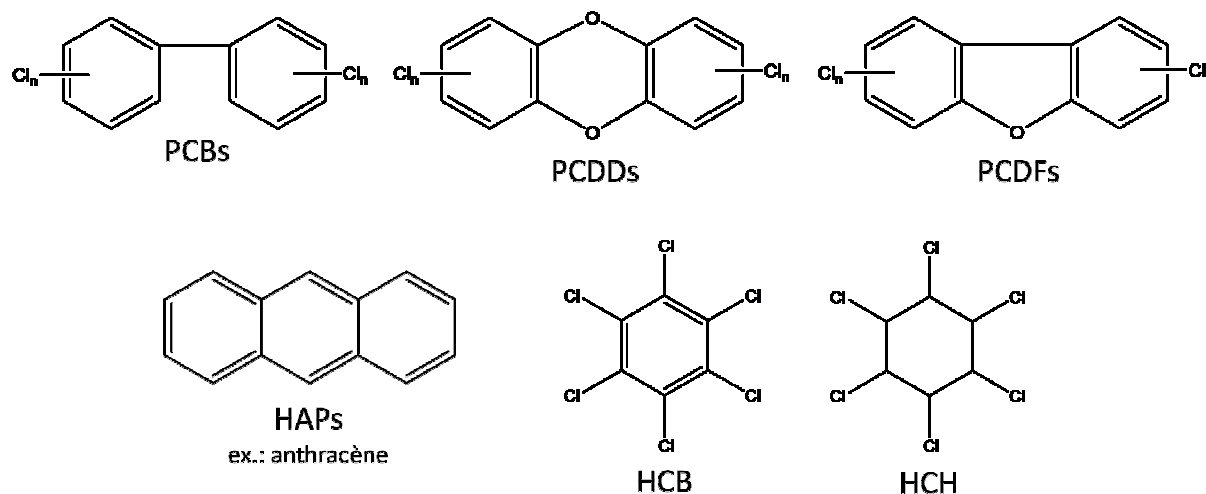
Figure 1.1 : Les principales classes de polluants organiques	2
Figure I.2 : Schéma et photo d'un système d'échantillonnage à grand volume (installé au jardin botanique à Strasbourg, France)	7
Figure I.3 : Schéma et photo d'un capteur passif à disque en mousse de polyuréthane	9
Figure I.4 : Schéma et photo d'un capteur passif XAD-2	10
Figure I.5 : Fenêtres de détection des différentes matrices biologiques	12
Figure I.6 : Coupe transversale de la peau	17
Figure I.7 : Activation métabolique des HAPs (exemple du benzo(a)pyrène)	22
Figure II.1.a : Sites de prélèvements d'échantillons d'air au Luxembourg	47
Figure II.1.b : Cartes 3D et description des sites de prélèvement	48
Figure II.2 : Schéma du fonctionnement de l'extraction ASE	51
Figure II.3 : Cylindre maillé à dimensions compatibles avec son introduction directe dans une cellule ASE	52
Figure II.4 : Chromatogrammes d'HAPs	55
Figure II.5 : Concentrations moyennes mesurées sur les cinq sites pour les différents HAPs	62
Figure II.6 : Variations temporelles du naphthalène, acénaphthène, fluorène, fluoranthène et pyrène	66
Figure II.7 : Variations temporelles par site pour acénaphthène, fluorène, fluoranthène et pyrène	67
Figure II.8 : Variations des quantités de naphthalène sur les capteurs sur le site de Remich, superposées aux températures moyennes pour la période respective et aux températures moyennes du jour de récupération du capteur	70
Figure II.9 : Structure développée du (S,R)-HFBOPCI	73
Figure II.10 : Etude des influences du volume de réactif ajouté, du pH du tampon et du temps de réaction sur le rendement de la réaction de dérivaison du 2-OHNap, 1-OHPhe et 4-OHPhe avec le (S,R)-HFBOPCI	75
Figure II. 11 : Chromatogrammes d'OH-HAPs	78

Figure II.12 : Histogramme montrant les quantités moyennes annuelles en 1-OHNap et 2-OHNap sur les cinq sites	83
Figure II.13 : Variations temporelles des quantités moyennes mensuelles en 1-OHNap et 2-OHNap sur les capteurs	85
Figure II.14 : Chromatogrammes d'OH-HAPs dans les cheveux	89
Figure II.15 : Influence du lavage des cheveux sur les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux	91
Figure II.16 : Influence d'un traitement enzymatique ( $\beta$ -glucuronidase) sur les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux	93
Figure III.1 : Schéma d'une fibre SPME	104
Figure III.2 : Comparaison des quatre fibres SPME	106
Figure III.3 : Variations de la réponse analytique moyenne	107
Figure III.4: Chromatogrammes des deux injections en CPG.	111
Figure III.5 : Variations temporelles des concentrations atmosphériques des pesticides sur les cinq sites de prélèvement	123
Figure III.6 : Chromatogrammes avant et après incubation des cheveux dans du NaOH 1 M	130
Figure III.7 : Influence de un, deux et trois cycles de décontamination des cheveux sur les concentrations en pesticides mesurées dans les cheveux	132
Figure III.8 : Périodes (de l'année 2008) couvertes par les échantillons de cheveux des 18 volontaires ayant participé à l'étude, et le nombre d'échantillons prélevés sur chacun des 18 volontaires	140
Figure III.9 : Concentrations moyennes par personne des pesticides détectés dans les cheveux des 18 volontaires	146
Figure III.10.a : Segmentation des échantillons de cheveux du sujet B	149
Figure III.10.b : Segmentation des échantillons de cheveux du sujet C	150
Figure III.11 : Moyennes mensuelles des pesticides détectés dans les cheveux des 18 volontaires	156

## **Chapitre I : Introduction**

Le rejet de molécules organiques fait partie des différents types de pollutions générées par l'activité humaine. Certaines de ces molécules difficilement dégradables vont se répartir et s'accumuler dans les différents compartiments environnementaux (eau, air, sols...) en fonction de leurs propriétés physico-chimiques (molécules volatiles, hydrosolubles, liposolubles...) et restent présentes le plus souvent à l'état de traces, mais de façon permanente, dans l'environnement au contact de l'homme.

L'émission de ces molécules peut se faire sporadiquement à de faibles doses, ou de façon continue à des quantités pouvant se cumuler à des milliers de tonnes par an. Parmi les classes de composés les plus abondantes, on trouve les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les diphényles polychlorés (PCBs), les dibenzo-p-dioxines et dibenzofuranes polychlorés (PCDD/Fs), l'hexachlorobenzène (HCB), les hexachlorocyclohexanes (HCH) et les pesticides (figure 1.1).



**Figure 1.1 :** Les principales classes de polluants organiques

L'industrie des transports (routiers, aériens, maritimes) représente l'une des sources majeures de production de ces pollutions organiques persistantes et les progrès techniques réalisés pour diminuer les émissions sont en grande partie annulés par l'augmentation continue du trafic observée au cours des dernières années (Denier van der Gon, 2007). La combustion incomplète des carburants utilisés est à l'origine de l'émission d'hydrocarbures

aromatiques polycycliques (HAPs) comme le naphthalène, le pyrène et le benzo(a)anthracène ainsi que de composés organiques volatils (COVs). La production d'énergie par la combustion de matières fossiles (p.ex. du charbon) est, elle aussi, à l'origine d'importantes émissions d'HAPs dans l'atmosphère (WHO, 2000).

D'autres industries telles que l'industrie papetière (émissions de PCDDs, de phénols et de PCDFs), la métallurgie et les centrales d'incinération de déchets (émissions de PCDDs, PCDFs, PCBs, et de phénols), les industries textiles (utilisation d'herbicides [bromacil]) et les industries alimentaires (utilisation de pesticides) sont également responsables d'une part importante dans la production de pollutions organiques (Schlett et Pfeifer, 1992 ; Rodriguez et al., 2000 ; de Wit, 2002 ; WHO, 2007). Les industries basées sur les transformations du pétrole (plastiques, caoutchouc, composites...) ainsi que les industries chimiques (production de pesticides, de solvants organiques,...) émettent, elles aussi, une panoplie de contaminants organiques dans l'atmosphère. Certains incidents survenus dans ce type d'installations, comme le relargage massif de dioxines survenu en 1976 dans l'usine chimique Icmesa à Seveso en Lombardie (Italie), sont toutefois à l'origine de dispositions visant à améliorer la sécurité et à contrôler ce type d'émissions. Ces dispositions n'ayant pas encore été généralisées au niveau international, les rejets demeurent problématiques dans certaines régions du monde comme l'Asie, entre autres pour le personnel travaillant dans les installations d'incinération de déchets (WHO, 2004 ; Nakao et al., 2005). A ces émissions industrielles s'ajoutent les émissions du chauffage résidentiel (par des carburants fossiles ou du bois) qui, lui-aussi, est responsable pour l'émission de grandes quantités d'HAPs (Denier van der Gon et al., 2007) qui s'accumulent dans l'environnement dans toutes les régions, y comprise l'Europe.

L'agriculture, principalement à travers l'utilisation de fongicides, d'herbicides et d'insecticides, est également responsable de la diffusion d'une quantité importante de polluants dans l'atmosphère (par dérive lors des épandages ou par volatilisation à partir du sol et des plantes après les traitements) (Glotfelty et al., 1984 ; Gregor et Gummer, 1989 ; Majewski et al., 1993 ; van der Werf, 1996). Bien que la population entière puisse être exposée à ces pollutions, les agriculteurs, et dans une moindre mesure les habitants proches des exploitations agricoles, représentent les personnes les plus exposées à ce type d'émissions.

D'autres catégories professionnelles peuvent aussi causer des expositions chroniques aux polluants organiques. Ainsi, le personnel des unités d'incinération est exposé de façon chronique à des PCBs, des dioxines et des furanes, et les ouvriers travaillant dans le goudronnement des routes sont soumis à des expositions chroniques aux HAPs (van der Werf, 1996 ; Brüske-Hohlfeld et al., 1999 ; Allam, 2002 ; Lee et al., 2002 ; Väänänen et al., 2003 ; Garshick et al., 2004 ; Nakao et al., 2005 ; Elovaara et al., 2006).

Finalement, certaines habitudes alimentaires, telles que la consommation d'aliments traités par des agents stabilisants (herbicides, bromacil et autres) (Schafer et Kegley, 2006), la consommation de nourriture grillée (présence d'HAPs) et certains comportements comme le tabagisme (production d'HAPs par combustion incomplète du tabac) sont à l'origine de l'exposition chronique des personnes concernées à une multitude de contaminants organiques (Hecht, 2002).

D'une manière générale, que les sources d'exposition soient liées au lieu de vie, à l'activité professionnelle ou au comportement individuel, une partie importante de la population est susceptible d'être exposée de façon chronique aux différents types de pollutions décrites ci-dessus. Si les quantités de polluants mises en jeu sont généralement trop faibles pour entraîner des effets pathologiques visibles à court terme (intoxication aiguë), les expositions à long terme semblent être associées au développement de différentes affections (cancers/leucémies, allergies, troubles du développement, stérilité...) (Brüske-Hohlfeld et al., 1999 ; Fisher, 1999 ; Hecht, 2002 ; Hoek et al., 2002 ; Bosetti et al., 2003 ; Garshick et al., 2004 ; Hardell et al., 2003 ; Schafer et Kegley, 2006). Il est donc important d'avoir des connaissances précises sur l'exposition chronique de l'homme à ces contaminants afin de comprendre plus en détail les effets de la pollution sur la santé humaine. De nombreuses recherches sont conduites pour développer des outils permettant de mettre en évidence l'exposition humaine chronique aux polluants organiques et d'estimer les effets de ces molécules sur la santé humaine. Ces recherches se font sur plusieurs niveaux afin d'obtenir une image la plus complète possible de l'exposition de l'homme. Il s'agit notamment

- a) du dosage des molécules recherchées sur les matrices environnementales (air, eau, sol), pour évaluer l'exposition de l'homme aux polluants organiques à travers son contact avec ces matrices (p.ex. l'inhalation d'air contaminé) et
- b) du dosage des mêmes molécules ou de leurs métabolites sur les matrices biologiques (avant tout dans les urines et dans le sang), ce qui permet de renseigner sur la quantité de pollution atmosphérique effectivement incorporée par l'homme, mais aussi sur son exposition à des sources de polluants qui découlent de son comportement individuel (p.ex. du travail, du tabagisme ou de la consommation de nourriture contaminée).

Les différentes activités de recherche et d'analyse dans le contexte de la mise en évidence de l'exposition humaine à ces composés toxiques sont regroupées sous le terme de biosurveillance, ou sous le terme anglais de « *biomonitoring* ».

## **I.1. Le biomonitoring de l'exposition humaine aux polluants organiques**

Le biomonitoring se compose de deux éléments distincts, à savoir le biomonitoring sur les matrices biologiques prélevées directement sur l'homme, communément appelé « Human Biomonitoring » [**HBM**], et le biomonitoring sur les matrices environnementales, communément appelé « Ambient Biomonitoring » [**ABM**] (Angerer et al., 2007). Le ABM est depuis longtemps la méthode de choix pour rechercher la présence de polluants dans l'environnement et évaluer l'exposition humaine à ces molécules. Ces travaux ont permis de mettre en évidence la présence de chlorophénols et de pesticides à travers des analyses d'air et d'eau de pluie effectuées dans des zones urbaines et rurales de l'Est de la France (Schummer et al., 2006 ; Scheyer, 2005 ; Scheyer et al., 2006), et l'étude des variations spatiales (en fonction du lieu) et temporelles (en fonction du temps) a permis de cartographier les différentes pollutions présentes sur un territoire donné (Morville et al., 2006). Pourtant, une estimation du risque de l'exposition aux polluants organiques pour la santé humaine basée uniquement sur des analyses de matrices environnementales mène très souvent à des surestimations du risque sur la santé humaine. Ainsi, des concentrations d'HAPs mesurées en 1998 dans des poussières prélevées dans certains appartements en

Allemagne ont mené à des assainissements très coûteux, alors que des analyses de HBM faites sur les locataires d'un des sites en question (à Francfort) n'ont montré aucune exposition particulièrement élevée par rapport à des personnes non-exposées aux poussières contaminées (Obenland, 2005). Une autre étude, réalisée sur des animaux sauvages (hérissons), a montré que les analyses effectuées sur les poils, le sang et les tissus de ces animaux ne reflétaient pas nécessairement les concentrations environnementales observées dans leur habitat (D'Havé et al., 2007). Le ABM seul ne permet donc pas de donner une estimation suffisamment réaliste de l'exposition humaine aux polluants organiques, mais, citant Angerer et al. (2004), « ... *il faut se méfier de ne pas désavouer un système qui a fait ses preuves* ». L'ABM reste un outil précieux pour aider à localiser les sources d'émission des contaminants, mais il faut bien en cerner les limites. Dans ce sens il a été suggéré de compléter les analyses du ABM par des analyses sur les matrices prélevées directement sur les humains, donc par le HBM. Le HBM donne une évaluation plus complète de l'exposition de l'homme en prenant en compte sa mobilité et les expositions dues à ses habitudes personnelles (p.ex. les HAPs dus au tabagisme ou les pesticides incorporés avec la nourriture). Il faut préciser toutefois que le HBM est censé compléter et non pas remplacer le ABM. Le ABM reste particulièrement important pour identifier les sources de l'exposition humaine aux polluants organiques (Angerer et al., 2007) et pour faire des suivis de certaines émissions concrètes, p.ex. en vue de leur élimination.

Le ABM et le HBM sont donc complémentaires et la combinaison des deux approches donne la possibilité d'obtenir une évaluation très complète des expositions de l'homme aux polluants.

### **I.1.1. Le « Ambient Biomonitoring » (ABM)**

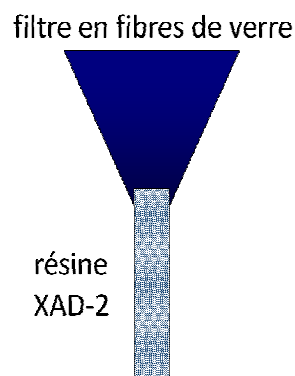
Le rôle du ABM dans le biomonitoring de l'exposition humaine aux polluants organiques est la mise en évidence de l'exposition due à la pollution environnementale. La seule matrice environnementale avec laquelle l'homme est en contact de façon permanente est l'air. L'air est aussi la seule matrice qui est disponible sur tous les sites, à l'intérieur et à l'extérieur des bâtiments. Les analyses sur l'air sont donc à privilégier pour le ABM.



Les informations obtenues à partir de la matrice air dépendent du mode et de la stratégie de l'échantillonnage. Les analyses d'air se font en général sur un site donné et ne prennent en compte que la contamination de l'air à un endroit et à un moment précis. Les sites de prélèvement doivent donc être choisis avec précaution et en fonction de l'information que l'on veut tirer des analyses. Par exemple, si l'objectif de l'étude est de déterminer la contamination globale de l'atmosphère, le site doit être choisi à l'abri de sources émettrices locales, et si le but est de localiser une pollution précise, le site doit être choisi de façon à pouvoir délimiter le plus précisément possible le foyer de la contamination. A l'heure actuelle, on dispose de plusieurs méthodes de prélèvement d'air ayant différents modes de fonctionnement et donnant des informations différentes. Ces méthodes peuvent être classées selon leur mode de fonctionnement en échantillonnage actif (nécessitant une alimentation électrique) et en échantillonnage passif (fonctionnant sans électricité).

#### I.1.1.1. L'échantillonnage actif

Le type de système de prélèvement actif le plus utilisé à l'heure actuelle intègre une pompe d'air à grand volume couplée à un filtre en fibres de verre ou de quartz et à une colonne remplie d'adsorbants (p.ex. des résines XAD, de la mousse en polyuréthane (PUF) (figure I.2). Le flux filtré varie entre 100 et 500 L/min et les volumes d'air prélevés se situent entre 500 et 2000 m<sup>3</sup> dans un espace de temps variant de plusieurs heures à deux jours.



**Figure I.2 :** Schéma et photo d'un système d'échantillonnage à grand volume (installé au jardin botanique à Strasbourg, France)

Le système de prélèvement à grand volume donne des résultats répétables et quantitatifs et il est bien adapté à l'échantillonnage de molécules présentes dans l'air à l'état de traces. Il est utilisé avec succès depuis de nombreuses années, et de nombreux polluants organiques ont été analysés à l'aide de ce système, par exemple les azaarènes (Chen et Preston, 1997), les HAPs (Morville et al., 2005 ; Callén et al., 2008 ; Esen et al., 2008), les PCBs (Yeo et al., 2003 ; Tasdemir Y., 2004) et les pesticides (Sanusi et al., 1999, 2000 ; Schummer et al., 2010a). Le passage successif de l'air aspiré à travers un filtre en fibres de verre et une cartouche de matériel adsorbant permet de faire la différence entre les concentrations des polluants dans les différentes fractions de l'atmosphère (fraction gazeuse et particulaire) (p.ex. Schummer et al., 2010b). Ceci est très utile pour étudier l'évolution des polluants dans l'atmosphère, vu que le rapport entre les concentrations dans les différentes phases permet d'avoir des informations sur le taux de déposition et la vitesse de dégradation de ces composés (Foreman et Bidleman, 1987 ; Hoff et al., 1992). Le désavantage de ces systèmes d'échantillonnage est qu'ils sont relativement encombrants, lourds et coûteux et nécessitent une alimentation électrique. Cet aspect limite le nombre de tels systèmes de prélèvement pouvant être déployés simultanément sur un grand nombre de sites. Le site d'échantillonnage doit être choisi en fonction de la disponibilité d'une alimentation électrique et de l'applicabilité d'un appareil encombrant plutôt qu'en fonction de l'intérêt du lieu d'échantillonnage.

#### **I.1.1.2. L'échantillonnage passif**

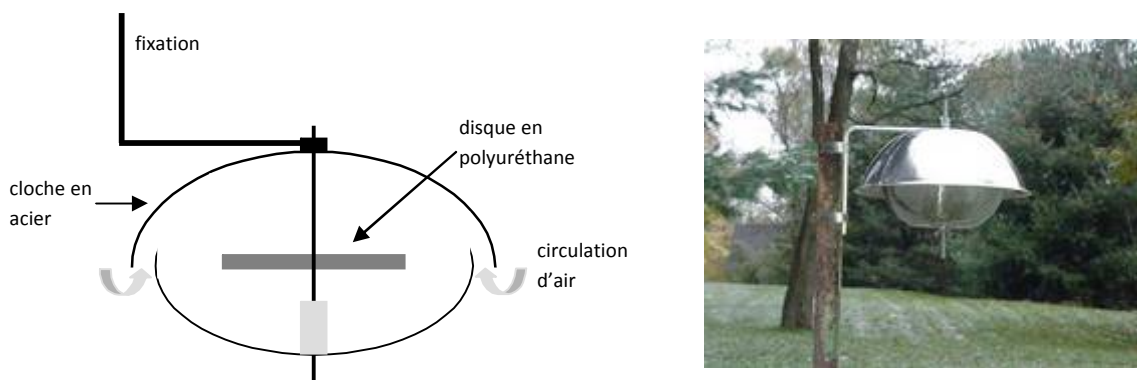
Toute technique de prélèvement peut être qualifiée de « passive » dès lors qu'un flux non forcé d'analytes s'établit entre l'échantillon et le support d'échantillonnage sur lequel vont s'adsorber les molécules comprises dans l'air (Górecki et Niamiesnik, 2002). Les techniques d'échantillonnage reposant sur ce principe sont appelées « échantillonneur diffusif », « capteur passif » ou encore « techniques d'échantillonnage intégratives » (Górecki et Niamiesnik, 2002). Plusieurs dispositifs différents ont été présentés :

- Le capteur en polyéthylène qui consiste en une membrane semi-perméable, soit un tube plat en polyéthylène de faible densité, rempli avec une phase liquide de haut poids

moléculaire (p.ex. de la trioléine). Les molécules diffusent à l'intérieur de la membrane jusqu'à l'atteinte d'un équilibre entre la membrane et l'air ambiant. Ce capteur a trouvé beaucoup d'applications pour l'échantillonnage passif de composés organiques dans l'eau (p.ex. Kot et al., 2000 ; Adams et al., 2007), mais, en ce qui concerne l'air, uniquement une seule utilisation de ce capteur pour l'échantillonnage d'HAPs a pu être trouvée dans la littérature (Bartkow et al., 2004).

- Le capteur passif « Fan-Lioy », nommé selon ses inventeurs Hugh Fan et Paul Lioy, qui consiste en 320 colonnes CPG (chromatographie en phase gazeuse) de 1 cm (diamètre interne 0,75 mm ; épaisseur du film 7  $\mu$ m) arrangées en nid d'abeille. Les molécules s'adsorbent sur la phase stationnaire des colonnes CPG et peuvent être désorbées thermiquement avant l'injection en CPG-SM (spectrométrie de masse) ou par extraction liquide. Ce capteur a été utilisé pour l'échantillonnage d'HAPs aux Etats-Unis (Fan et al., 2006).

- Le capteur à disque en mousse de polyuréthane qui consiste en un support tripode ouvert sur tous les côtés pour minimiser les restrictions liées au flux d'air généralement très bas à l'intérieur des bâtiments. L'adsorption des molécules se fait sur un disque en mousse de polyuréthane fixé au milieu du capteur (figure I.3).

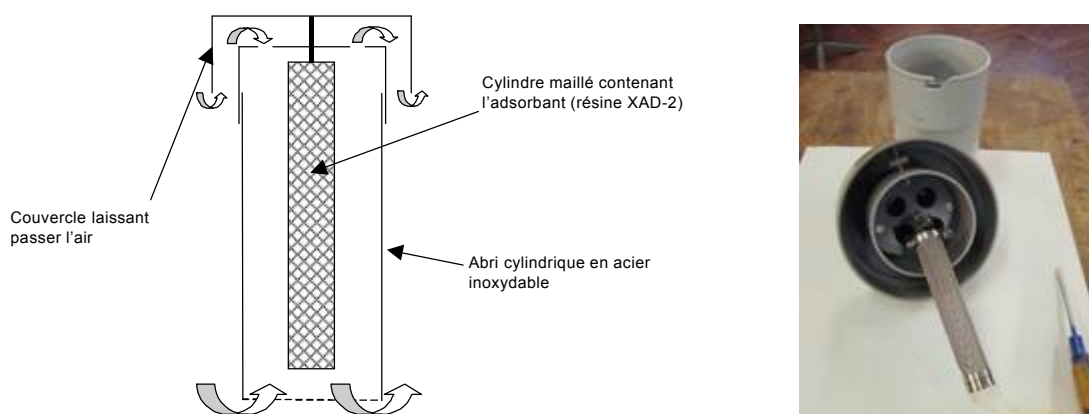


**Figure I.3 :** Schéma et photo d'un capteur passif à disque en mousse de polyuréthane (Harner et al., 2006)

Ce capteur passif est adapté principalement aux molécules comprises dans la fraction gazeuse de l'atmosphère et a déjà été utilisé avec succès pour collecter des polluants

organiques (PCBs, pesticides organochlorés, HAPs) en Europe et au Canada (Shoeib et Harner, 2002 ; Jaward et al., 2004a,b ; Wilford et al., 2004 ; Gouin et al., 2005, 2008 ; Motelay-Massei et al., 2005 ; Pozo et al., 2005 ; Shoeib et al., 2005 ; Waite et al., 2005 ; Gioia et al., 2006 ; Harner et al., 2006a,b ; Tao et al., 2007, 2009 ; Klánová et al., 2008 ; Bohlin et al., 2010 ; Hayward et al., 2010).

- Le capteur passif à base de résine XAD-2 introduit par Wania et al. (2003), qui consiste en un cylindre maillé en acier inoxydable contenant la résine sur laquelle vont s'adsorber les molécules. Le cylindre est fixé à l'intérieur d'un abri tubulaire ouvert à sa base et recouvert d'un couvercle permettant la mise en place d'un léger flux d'air à travers le cylindre (figure I.4).



**Figure I.4 :** Schéma et photo d'un capteur passif XAD-2 selon Wania et al. (2003)

Ce type de capteur a été utilisé avec succès pour étudier la distribution régionale de pesticides organochlorés au Canada et en Chine (Wania et al., 2003 ; Hayward et al., 2010 ; Wang et al., 2010).

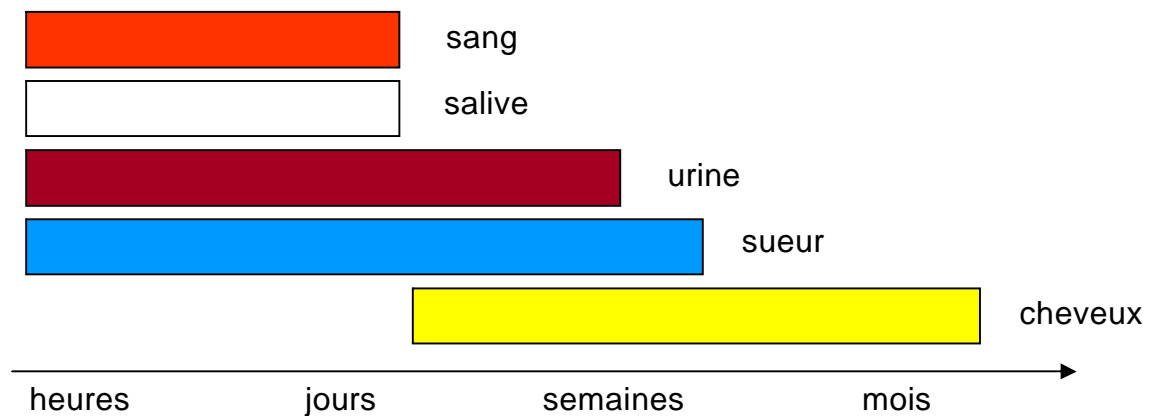
Les différents types de capteurs passifs présentés ici, légers et peu encombrants, peuvent être facilement transportés, contrairement aux capteurs actifs. Le coût réduit d'un capteur passif est un avantage qui rend abordable son installation en série. La durée d'exposition des capteurs varie en fonction de la concentration atmosphérique des

molécules recherchées et peut s'étendre de quelques jours à quelques mois. Pour des composés présents dans l'air à faible concentration, par exemple les pesticides, il est conseillé d'exposer les capteurs pendant au moins un mois afin d'accumuler des quantités de molécules analysables (Wania et al., 2003).

Le désavantage principal de tous les capteurs passifs utilisés aujourd'hui est que, malgré des essais d'estimation du flux les traversant (Wania et al., 2003 ; Tuduri et al., 2006), il n'est pas encore possible de déterminer avec précision le volume d'air analysé. Les résultats obtenus à l'aide de capteurs passifs doivent donc être considérés comme semi-quantitatifs à l'heure actuelle. Le rôle du « ambient biomonitoring » étant avant tout de renseigner sur la qualité de l'air sur tous les sites et sur plusieurs endroits en parallèle, l'utilisation de capteurs passifs est à préférer dans ce contexte.

## I.1.2. Le « Human Biomonitoring » (HBM)

En 1980, dans une période où les activités dans le domaine du HBM commençaient à gagner en importance dans l'Union Européenne, Zielhuis (1984) a proposé la définition suivante pour le biomonitoring humain : « *Le HBM est une activité systématique continue ou répétée pour collecter des échantillons biologiques pour l'analyse de concentrations de polluants, métabolites ou de paramètres biologiques à effets défavorables, pour l'application immédiate, avec l'objectif de mettre en évidence l'exposition et les effets sur la santé de sujets exposés, comparer les données observées avec des valeurs de référence et – si nécessaire – donnant accès à des actions correctives* ». Plusieurs matrices peuvent être utilisées pour le HBM et la qualité de l'information obtenue dépend largement du choix de celles-ci. Les matrices biologiques sont en général regroupées dans deux classes, à savoir les matrices invasives, parfois appelées matrices « classiques » (p.ex. sang, urines), et les matrices non-invasives, communément appelées matrices « alternatives » (p.ex. cheveux, sueur et salive). Ces deux catégories de matrices biologiques se distinguent avant tout par leur mode de prélèvement (invasif ou non-invasif), les molécules qui y sont dosables (molécules mères et/ou métabolites) et les fenêtres de détection accessibles (figure I.5).



**Figure I.5 :** Fenêtres de détection des différentes matrices biologiques

### **I.1.2.1. Les matrices biologiques invasives**

Le sang et les urines sont généralement disponibles en grandes quantités et, à l'heure actuelle, leur analyse est normalement faite dans des conditions de routine. Les deux matrices sont utilisées très fréquemment dans le HBM et constituent la base de la recherche de xénobiotiques auprès de l'homme.

Le sang doit être considéré comme milieu biologique privilégié, vu qu'il est en contact avec l'organisme entier et donc avec tous les organes où les toxines sont stockées. Ainsi, l'analyse du sang donne une image très complète du niveau de contamination de l'organisme. Vu la fenêtre de détection relativement courte des analyses de sang (1 heure à 2 jours, voir figure I.5 page 12), le sang reflète la situation au moment du prélèvement ou des faits, en fonction bien sûr du temps de demi-vie de la substance analysée. Les analyses de sang ont trouvé de nombreuses applications dans le domaine de la toxicologie médicolégale, notamment pour mettre en évidence des incorporations récentes, pour faire des suivis thérapeutiques et pour détecter des intoxications aiguës. Dans ce contexte, elles ont permis de mettre en évidence des consommations d'alcool récentes (Appenzeller et al., 2005 ; Jones et Kugelberg, 2010), des administrations récentes de drogues comme des amphétamines et de la cocaïne (Kronstrand et al., 1998) et des intoxications aiguës aux drogues (« over-dose ») comme l'héroïne (Kronstrand et al., 1998 ; Meissner et al., 2002). Le grand désavantage du sang comme matrice biologique est son prélèvement invasif. La prise de sang doit être effectuée par du personnel médical et elle entraîne un inconfort, voire une douleur pour le patient. De plus, lors du maniement des échantillons de sang, les opérateurs sont exposés à un risque d'infection (hépatites, sida, etc.). Après le prélèvement du sang, celui-ci doit être homogénéisé pour éviter des coagulations et transporté et stocké à froid (< 4 °C) pour éviter une dégradation.

Les urines, contrairement au sang, présentent une fenêtre de détection plus large (6 à 72 heures, voir figure I.5 page 12). Le prélèvement, moins invasif que celui du sang, peut néanmoins être associé à une gêne pour certains sujets. De plus, les urines doivent elles aussi être maintenues à basse température pendant le transport et le stockage pour éviter une dégradation de l'échantillon. Les urines sont généralement disponibles en quantités plus importantes que le sang et permettent ainsi la recherche de xénobiotiques peu concentrés

(Angerer et al., 2007). Le passage des xénobiotiques dans les urines se fait en général par filtration du sang dans les reins en vue de leur évacuation du corps. Les xénobiotiques étant généralement métabolisés avant de passer dans les urines pour augmenter leur hydrosolubilité, les urines sont avant tout utilisées pour doser des métabolites (Ramírez Fernández et al., 2010). Les urines sont ainsi souvent utilisées en toxicologie médico-légale pour retracer des consommations récentes, p.ex de stupéfiants (cannabis, amphétamines, etc.) (Martin et al., 1988 ; Nishida et al., 2004 ; Ramírez Fernández et al., 2010).

Au plan de la chimie environnementale, ces deux matrices (sang et urines) ont été utilisées depuis les années 1960 pour évaluer l'exposition humaine aux polluants organiques (Shafik et Enos, 1969). Les premières molécules analysées étaient les pesticides organophosphorés. Depuis lors, de nombreux polluants organiques ont été déterminés dans le sang et les urines. Ainsi, depuis les années 1980, les dioxines et les furanes ont été recherchés de manière systématique dans le sang et les urines de personnes ayant subi des expositions à ces polluants, par exemple en Rhénanie-du-Nord-Westphalie (Allemagne), une région très peuplée et avec beaucoup d'industries lourdes et métallurgiques (Wittsiepe et al., 2000 ; Wilhelm et al., 2007). En 1985, des études systématiques ont été démarrées dans la même région pour déterminer l'exposition d'enfants (de 6 ans) et de femmes âgées (> 55 ans) aux phénols et aux composés organiques volatils (COVs) en dosant ces composés dans les urines et dans le sang (études démarrées en 1987) (Jermann et al., 1989). L'exposition aux HAPs a également été évaluée par des analyses sur les urines, par exemple en y dosant leurs métabolites monohydroxylés. Ainsi, le 1-hydroxypyrene a été déterminé dans les urines humaines pour la première fois par Jongeneelen et al. (1985) pour mettre en évidence une exposition aux HAPs. Ces études ont été poursuivies et le nombre de métabolites recherchés a continuellement augmenté. Aujourd'hui, les métabolites des HAPs comprenant entre deux (naphtalène) et cinq (p.ex. benzo(a)pyrène) cycles aromatiques sont recherchés de manière régulière dans les urines humaines (p.ex. Smith et al., 2002 ; Xu et al., 2004 ; Romanoff et al., 2006).

De grands progrès ont été faits au cours des quatre dernières décennies sur le HBM de l'exposition humaine aux polluants organiques dans les deux matrices sang et urines, et les études faites depuis 2000 ont pu être focalisées sur l'évaluation d'expositions précises, par exemple d'expositions dues à l'exercice de l'activité professionnelle. Ainsi, des métabolites



monohydroxylés d'HAPs sont recherchés dans les urines d'ouvriers occupés à des travaux routiers et ayant de fortes expositions aux HAPs p.ex. lors de l'application de l'asphalte (Väänänen et al., 2003 ; Elovaara et al., 2006). Des dioxines sont recherchées dans le sang de personnes travaillant dans des installations d'incinération de déchets ou habitant à proximité (Hu et al., 2004 ; Nadal et al., 2008) et des pesticides sont recherchés dans le sang et les urines d'agriculteurs faisant des traitements phytosanitaires (Tuomainen et al., 2002 ; Azmi et al., 2006).

Les matrices biologiques classiques (sang et urines) sont très bien étudiées en vue du HBM de l'exposition humaine aux polluants organiques. De nombreuses méthodes sont utilisées en routine pour contrôler l'exposition humaine aux polluants organiques et des valeurs de référence existent pour la plupart des contaminants. Pourtant, les inconvénients cités (prélèvement invasif, risque d'infection, etc.) en limitent considérablement l'usage en-dehors du contexte purement médical. C'est ainsi que les matrices biologiques non-invasives ou « alternatives » ont trouvé de plus en plus d'applications dans le HBM, leur prélèvement non-invasif permettant d'éviter certains aspects limitatifs liés aux matrices classiques sang et urines.

### **I.1.2.2. Les matrices biologiques non-invasives**

Plusieurs matrices alternatives ont été étudiées pour le HBM, à savoir la salive, la sueur, les cheveux, les ongles, les dents de lait (après perte), le lait maternel et autres (Esteban et Castaño, 2009), et les plus utilisées en sont la salive, la sueur et les cheveux (Kadehijan, 2005). Le prélèvement de ces matrices est complètement non-invasif, donc ne présente ni inconfort, ni douleur pour le patient, et peut être manié sans risque d'infection pour l'opérateur.

- L'intérêt de la matrice **salive** résulte avant tout de son mode de collecte très facile, comme le crachat, la stimulation acide (jus de citron) ou l'utilisation de salivettes spécialement conçues pour la collecte de la salive. Après collecte, les échantillons de salive prélevés doivent être stockés à froid (< 4 °C) pour éviter la dégradation de l'échantillon. Les

xénobiotiques passent dans la salive par diffusion passive à partir du sang, ce qui fait en sorte que la fenêtre de détection de la salive est très comparable à celle du sang (1 heure à 2 jours au maximum) (figure I.5 page 12). Pourtant, toutes les substances ne s'y incorporent pas (p.ex. les cannabionides), et le risque de contamination de la salive par des substances fumées ou administrées par voie orale est très élevé (Niedbala et al., 2001 ; Yacoubian et al., 2001 ; Kadehijan, 2005).

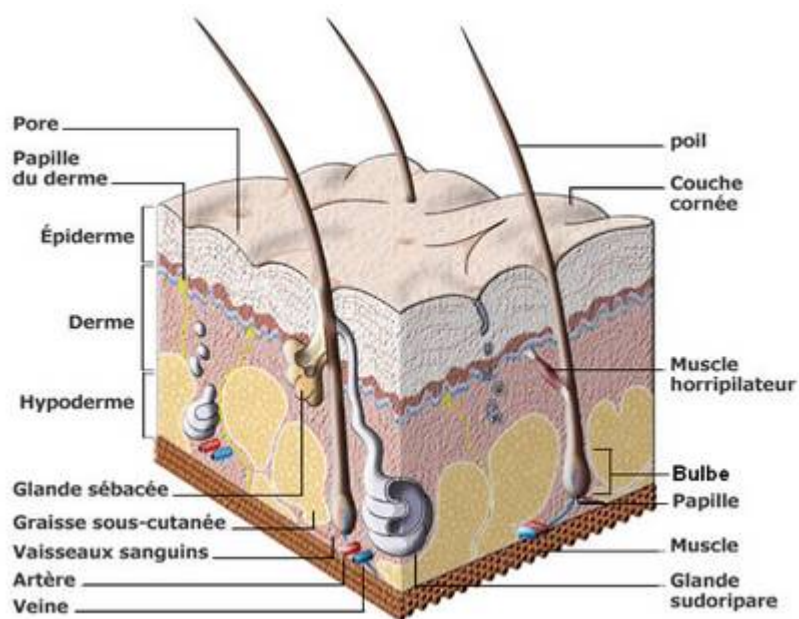
La salive a trouvé beaucoup d'applications en chimie clinique et en toxicologie médico-légale (dosage d'opiacés, d'amphétamines, de cocaïne, etc.) (Fucci et al., 2003 ; Yonamine et al., 2003 ; Wylie et al., 2005 ; Martins Ferreira, 2007 ; Gröschl et al., 2008), mais à part quelques exceptions (dosage de l'atrazine ou de COVs) (Denovan et al., 2000 ; Silva et al., 2005 ; Ferrari et al., 2008), la salive n'a pas encore été utilisée pour le HBM de l'exposition humaine à des polluants environnementaux.

- La **sueur** est une solution hypotonique dérivée du plasma par filtration passive dans les glandes sudoripares et excrétée par les pores de sueur se trouvant à l'extrémité de ces glandes (Patterson et al., 2000). Les molécules mères apparaissent dans la sueur avec un léger décalage par rapport au sang, mais restent des marqueurs d'une exposition récente. En comparaison avec la salive, la sueur est plus difficile à collecter. Plusieurs moyens pour la collecte ont été présentés (Patterson et al., 2000), le plus efficace à l'heure actuelle étant un tampon fin de cellulose sur lequel se concentrent les molécules non volatiles présentes dans la sueur (« PharmChek® Drugs of Abuse Patch »). Ce patch peut être appliqué sur la peau pendant une durée maximale d'une semaine, la fenêtre de détection s'étendant ainsi de quelques heures à une semaine (figure I.5 page 12).

La sueur a donné lieu à beaucoup d'applications en toxicologie médico-légale et un nombre important de xénobiotiques ont pu y être détectés, comme les opioïdes (Kintz et al., 1996 ; Fogerson et al., 1997), l'héroïne (Moody et Cheever, 2001) ou l'éthyle glucuronide (Schummer et al., 2008). Cependant, à notre connaissance, la sueur n'a pas encore été utilisée dans le HBM de l'exposition humaine aux polluants environnementaux. Seulement une étude montrant l'absorption par la sueur de COVs déposés sur la peau (Cheng et al.,

2005) et une autre étude montrant l'absorption par la sueur de pesticides compris dans les textiles (Zhu et al., 2009) ont pu être trouvées.

- Les **cheveux** donnent accès à des fenêtres de détection comprises entre une et plusieurs semaines (figure I.5 page 12) et sont ainsi marqueurs d'expositions répétées ou chroniques. Le prélèvement des cheveux est très facile, ne nécessite pas de personnel qualifié, et l'échantillon prélevé peut être envoyé au laboratoire d'analyse par voie postale. Le stockage peut se faire à température ambiante, mais il est généralement conseillé d'emballer les cheveux dans du papier aluminium pour les protéger de la lumière et éviter des dégradations des substances incorporées (Wennig, 2000). Le cheveu est formé dans le bulbe, localisé 3 à 5 mm en-dessous de la peau (voir figure I.6). Il renferme 65 à 95% de protéines, 1 à 9% de lipides, 0,1 à 5% de pigments (mélanines) et des traces de minéraux, polysaccharides et d'eau (Kronstrand et Scott, 2007).



**Figure I.6 :** Coupe transversale de la peau (Kronstrand et Scott, 2007)

L'incorporation de substances dans les cheveux est très complexe et les mécanismes sont encore mal élucidés. Trois modèles se discutent à l'heure actuelle : (1) la diffusion passive ou active des substances du sang vers les cellules en croissance du bulbe, (2) la diffusion externe à partir des sécrétions sudorales ou sébacées, et (3) une contamination externe par infiltration de substances déposées sur les cheveux (Pötsch et Skopp, 2004). L'incorporation des substances dépend fortement de la lipophilicité et du pKa des molécules (Nakahara, 1999) ainsi que de leur affinité pour la mélanine. C'est pourquoi, les substances lipophiles et basiques sont incorporées plus facilement que celles qui sont hydrophiles et acides (Musshoff et Madea, 2007). Les substances mères sont détectées en général à des concentrations plus élevées que leurs métabolites, ces derniers étant généralement moins lipophiles (Posecion et al., 2006). Les cheveux ont trouvé de nombreuses applications en toxicologie médico-légale, notamment pour mettre en évidence des consommations chroniques d'alcool (Yegles et al., 2004 ; Appenzeller et al., 2007), de cocaïne (Cairns et al., 2004 ; Hill et al., 2008), d'héroïne (Cone et al., 1993 ; Lee et al., 2009), d'amphétamines (Martins Ferreira et al., 2005, Ferreira Martins et al., 2007) et autres (Kintz, 2007).

Contrairement aux autres matrices biologiques alternatives, les cheveux ont déjà trouvé beaucoup d'applications dans le HBM de l'exposition humaine aux polluants organiques. Ainsi, ils ont déjà été utilisés pour évaluer l'exposition humaine aux PCBs (Dauberschmidt et Wennig, 1998 ; Covaci and Schepens, 2001 ; Nakao et al., 2002, 2005 ; Altshul et al., 2004 ; Gill et al., 2004 ; Zhang et al., 2007), aux dioxines et aux furanes (Schramm et al., 1992 ; Schramm 1997 ; Nakao et al., 2002, 2005 ; Chan et al., 2007) aux HAPs (Toriba et al., 2003) et aux pesticides organochlorés (Tsatsakis et al., 1998 ; Cirimele et al., 1999 ; Neuber et al., 1999 ; Covaci and Schepens, 2001 ; Covaci et al., 2002, 2008 ; Altshul et al., 2004 ; Gill et al., 2004 ; Villain et al., 2004 ; Ostrea et al., 2006, 2008, 2009 ; Posecion et al., 2006 ; Zhang et al., 2007 ; Tsatsakis et al., 2008), organophosphorés (Tsatsakis et al., 2008, 2009, 2010) et autres (Ostrea et al., 2006, 2008, 2009 ; Posecion et al., 2006 ; Dulaurent et al., 2008).

## **I.2. Le biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides**

Des conventions internationales (p.ex. la Convention de Stockholm) (Nations Unies, 2009) ont fortement régularisé ou même interdit la production et l'émission d'un grand nombre de polluants organiques, vu les effets néfastes qu'ils peuvent avoir sur la santé humaine (p.ex. les PCBs, les PCDD/Fs, les HCHs). Ces conventions ne considèrent pourtant ni les HAPs, ni les pesticides les plus utilisés aujourd'hui qui, dans les pays fortement peuplés et présentant une activité agricole importante, sont parmi les polluants organiques les plus émis dans l'environnement. En France, les chiffres publiés par le CITEPA (Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique) estiment les émissions de l'année 2008 en PCDD/Fs à 112 grammes, en HCB à 13 kilogrammes, en PCB à 65,9 kilogrammes et en HAPs à 20,7 tonnes. Ces chiffres confirment donc que les HAPs sont, à l'heure actuelle, émis à des quantités largement supérieures à celles des autres polluants organiques. En ce qui concerne les pesticides, l'INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques) estime la quantité de pesticides utilisés en France à 70 000 – 100 000 tonnes par an. Sachant que le pourcentage de pesticides pouvant passer dans l'environnement suite aux épandages (par dérive ou volatilisation après application) peut atteindre entre 50 % et 90 % des pesticides appliqués sur les champs (Glotfelty et al., 1984 ; Gregor et Gummer, 1989 ; Majewski et al., 1993 ; van der Werf, 1996), les quantités de pesticides passant dans l'environnement sont au moins de plusieurs milliers de tonnes par an.

### **I.2.1. Les HAPs**

#### **I.2.1.1. Origines et formation des HAPs**

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des molécules organiques constituées de plusieurs cycles benzéniques fusionnés. Ils sont formés lors de la combustion de matière organique à des températures supérieures à 500 °C et dans des conditions déficientes en oxygène. Les liaisons carbone-hydrogène et carbone-carbone d'hydrocarbures

saturés légers se dissocient pour former des radicaux libres qui se recombinent pour former de l'acétylène, réagissant avec des composés comprenant des cycles aromatiques résistant à ces hautes températures (Ravindra et al., 2008 ; Tamakawa, 2008). Les origines de ces combustions peuvent être naturelles (feux de bois, volcans) ou anthropiques (causées par l'homme ou résultant de ses activités) (Xu et al., 2006 ; Zhang et Tao, 2009). Parmi les sources anthropiques, on trouve surtout les émissions dues aux combustions de carburants dans l'industrie du transport (routier, aérien, maritime) et du charbon dans les industries lourdes et de production d'énergie électrique. Dans les pays développés, il faut ajouter une source importante d'émissions d'HAPs, à savoir toutes les émissions résultant des activités journalières individuelles, par exemple du chauffage résidentiel et de la combustion d'ordures ménagères. Les émissions dues à ces activités comptent parmi les sources d'émissions d'HAPs les plus importantes dans ces pays et sont ainsi responsables pour 35 % de tous les HAPs émis aux Etats-Unis (Zhang et Tao, 2009).

#### **I.2.1.2. L'exposition humaine aux HAPs**

Une première source d'exposition aux HAPs concernant toute la population est la contamination de l'atmosphère. Les concentrations en HAPs sont généralement plus élevées dans les zones urbaines que dans les zones rurales, pouvant atteindre  $10 \text{ ng/m}^3$  ou plus dans de grandes agglomérations comme Saragosse (Callén et al., 2008), Rome (Menichini et al., 2007) ou Athènes (Mandalakis et al., 2002). En considérant un volume moyen d'air respiré d'environ  $10 \text{ m}^3$  d'air par jour (au repos) (Jacob et Seidel, 2002), ceci correspond à une incorporation pouvant atteindre  $100 \text{ ng/jour}$ .

Une autre source de l'exposition humaine aux HAPs provient de l'alimentation, donc de l'eau et de la nourriture. Les concentrations des HAPs dans l'eau potable peuvent varier de  $0,03$  à  $6,5 \text{ } \mu\text{g/L}$  (Rugen et al. 1989 ; Badawy et Emababy, 2010) et, en supposant qu'un adulte boive  $1,5$  litres d'eau par jour, la quantité d'HAPs incorporés par la boisson d'eau peut atteindre  $10 \text{ } \mu\text{g/jour}$ . La quantité d'HAPs incorporés par l'alimentation est difficile à estimer, parce qu'elle dépend fortement des habitudes alimentaires individuelles. Ainsi, les concentrations d'HAPs dans les légumes peuvent varier de  $8$  à  $40 \text{ } \mu\text{g/kg}$  (Zohair et al., 2006), alors que, pour la viande grillée, elles peuvent monter jusqu'à  $130 \text{ } \mu\text{g/kg}$  (Farhadian et al.,

2010). Ceci suggère que l'ingestion d'HAPs par l'alimentation soit plus importante que celle par la respiration dans des conditions environnementales sans pollution excessive.

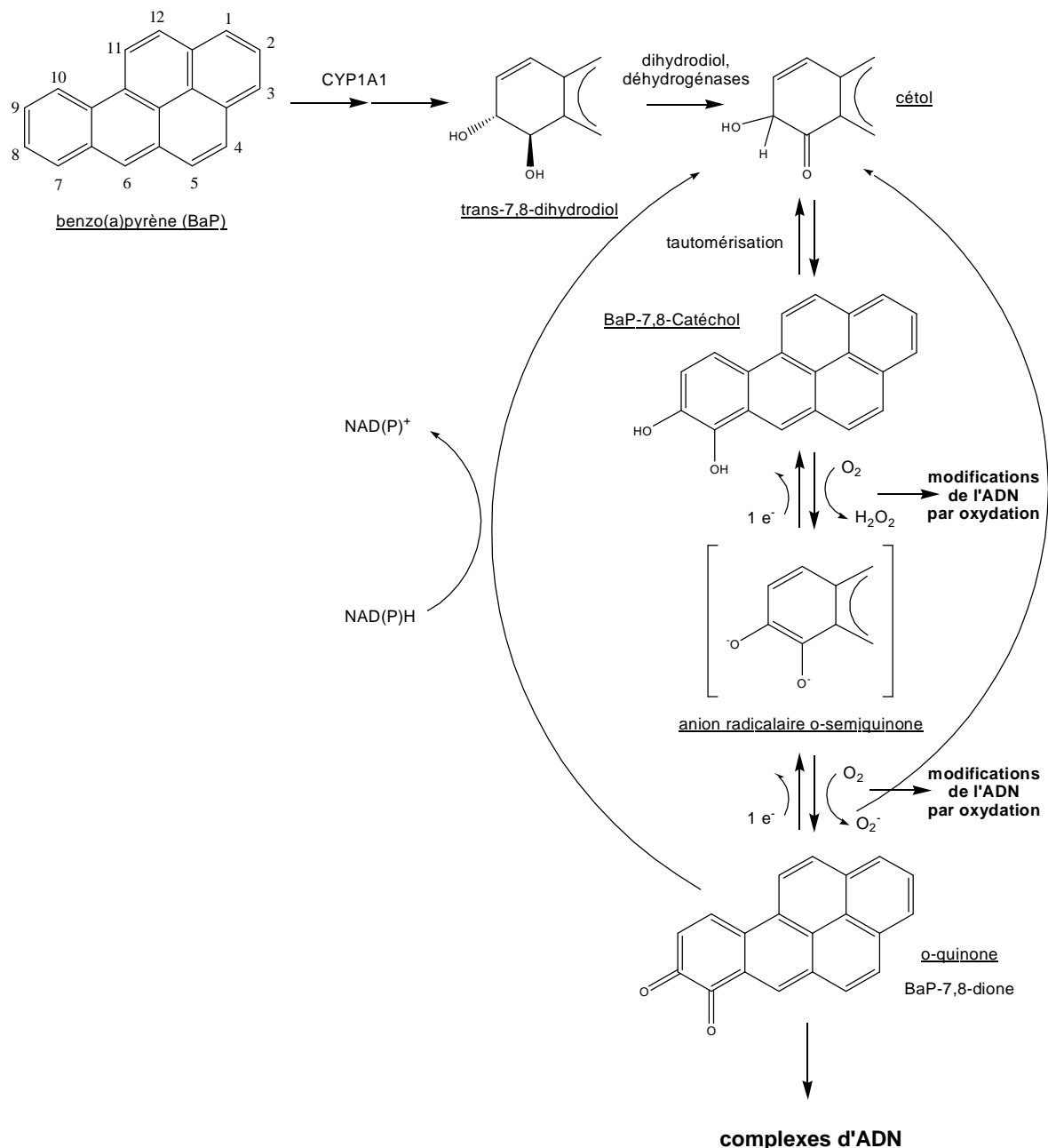
A ces sources d'exposition qui concernent toute la population se rajoutent des sources particulières qui concernent uniquement des groupes spécifiques. Une telle source est le tabagisme. La fumée d'une seule cigarette peut contenir entre 100 et 1300 ng d'HAPs selon la marque de la cigarette (Kalaitzoglou et Samara, 2006). En considérant une consommation de 20 cigarettes par jour, la quantité d'HAPs inhalée peut ainsi varier entre 2 et 26 µg/jour. Dans ce contexte, il faut aussi mentionner le tabagisme passif qui présente une source d'exposition importante aux HAPs, même si elle est difficile à chiffrer (Grimmer et al., 1987 ; Lodovici et al., 2004). D'autres sources d'exposition particulières sont engendrées par certaines activités professionnelles comme le travail dans les centrales de remédiation des sols ou dans le goudronnement des routes (Väänänen et al., 2003, 2006 ; Elovaara et al., 2006), mais des données permettant de chiffrer ces expositions n'ont pas été trouvées.

### **I.2.1.3. Effets engendrés par l'exposition chronique aux HAPs**

Les HAPs ne sont pas utilisés à l'état concentré par l'homme et une exposition aiguë est très rare. Une exposition chronique par contre est quasiment inévitable comme les HAPs sont présents dans tous les compartiments de la vie humaine.

L'exposition chronique aux HAPs peut avoir des effets graves comme la formation de cancers. Pourtant, d'un point de vue toxicologique, les HAPs requièrent une activation métabolique pour développer leurs propriétés cancérogènes. Après incorporation dans l'organisme, les HAPs sont soumis à des transformations métaboliques successives (hydroxylations, époxydations, déshydrogénations) catalysées par des activités monooxygénases dépendantes du cytochrome P450 (CYP1A1) et des hydrolyses catalytiques. Ces réactions forment des dérivés époxydes respectivement dihydrodiols. Parmi ces dérivés se trouvent les catéchols qui peuvent ensuite être transformés en quinones et former des liaisons covalentes avec les bases de l'ADN (voir figure I.7 page 22). La formation de tels complexes d'ADN est considérée comme étant la première étape dans le développement de cancers induits par les HAPs. Certains réarrangements peuvent aussi

mener à la formation de métabolites monohydroxylés (phénols) qui sont partiellement conjugués avec des groupements glucuronide ou sulfate (Binkova et Sram, 2004 ; Xue et Warshawsky, 2005). Ce sont ces métabolites monohydroxylés qui sont souvent dosés dans les urines comme biomarqueur d'une exposition humaine aux HAPs (voir § I.1.2.1. page 13).



**Figure I.7 :** Activation métabolique des HAPs (exemple du benzo(a)pyrène) selon Xue et Warshawsky (2005).



Pour une grande partie des polluants organiques, la carcinogénéité est contestée ou l'exposition humaine doit dépasser au moins un certain seuil critique pour provoquer des affections. Pour certains HAPs par contre, le potentiel cancérigène est absolument prouvé et le benzo(a)pyrène est considéré comme étant la première substance chimique pour laquelle le pouvoir cancérigène a été démontré (IARC, 1972 ; Imaida et al., 1991 ; WHO, 2000).

#### **I.2.1.4. Etat de l'art du biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs**

La constatation des propriétés cancérogènes des HAPs vers la fin des années 1970 a attiré l'attention des chercheurs sur cette famille de composés et des analyses d'air ont été faites afin de déterminer la contamination de l'atmosphère en HAPs (Hughes et al., 1980). Au début, ces analyses étaient focalisées sur le benzo(a)pyrène (BaP), vu sa carcinogénéité, mais les analyses suivantes ont montré que d'autres HAPs comme le naphthalène, le fluorène et le phénanthrène sont beaucoup plus concentrés dans l'air et 16 HAPs (du naphthalène au indéno(1,2,3-c,d)pyrène) ont été classés comme polluants prioritaires par l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis (<http://catalog.gpo.gov/fdlpdir/FDLPdir.jsp>). La majorité des études publiées récemment ont ainsi été concentrées sur ces 16 HAPs (p.ex. Mastral et al., 2003 ; Lang et al., 2007 ; de Souza Pereira et al., 2007).

Les premières analyses d'air, réalisées à l'aide de systèmes de pompage à grand débit (80 – 250 L/min.), ont permis d'étudier les variations dans les concentrations d'HAPs entre différentes régions (Denier van der Gon et al., 2007 ; Zhang et Tao, 2008) et entre différents quartiers d'une ville (p.ex. Saragosse) (Mastral et al., 2003). Ces études ont montré que les concentrations atmosphériques en HAPs sont fortement corrélées aux émissions de sources locales comme la circulation routière et les industries (Mastral et al., 2003 ; Zhang et al., 2009), et qu'elles sont globalement plus élevées en hiver, probablement à cause du chauffage (Lang et al., 2007 ; Zhang et Tao, 2008). La précision des analyses d'air est donc étroitement liée à la distance entre la source d'émission et le site d'installation du système de prélèvement. Pourtant, l'encombrement de ces appareils et leur besoin d'une alimentation électrique (voir § I.1.1.1. page 7) empêchent de les installer sur certains sites (p.ex. montagnes, régions inhabitées). Pour éviter ce problème, il a été essayé de

développer des systèmes d'échantillonnage passif fonctionnant sans électricité et étant peu encombrés. Plusieurs types de capteurs passifs ont été développés pour prélever des HAPs environnementaux, et le plus utilisé à l'heure actuelle est le capteur à base de disques en mousse de polyuréthane (voir § I.1.1.2. page 8). Ce capteur a été utilisé pour étudier la contamination de l'atmosphère en HAPs sur des sites ruraux et urbains dans 22 pays européens (Jaward et al., 2004a). Les concentrations étaient maximales en Russie et en Angleterre, et minimales en Allemagne et en Islande. Ces observations montrent que les capteurs passifs sont bien adaptés pour mettre en évidence des variations en fonction du lieu d'échantillonnage. Récemment, ces capteurs ont également été utilisés en République Tchèque pour étudier les variations temporelles des concentrations atmosphériques, mais des variations significatives n'ont pas pu être observées (Klánová et al., 2008). Dans une autre étude, Bohlin et al. (2010) ont étudié la diffusion d'une contamination en HAPs à l'intérieur d'une usine de produits plastiques en Suède, et ils ont réussi à mettre en évidence des différences dans la contamination de l'air à différents endroits de l'usine et à localiser des endroits particulièrement contaminés en acénaphthène, fluorène, phénanthrène et fluoranthène.

Un autre élément qui a été étudié est l'influence des conditions météorologiques sur l'échantillonnage passif. Ainsi, il a été observé que l'adsorption des HAPs sur les disques est favorisée par des températures élevées et par le vent (plus grand apport d'analytes au capteur) (Klánová et al., 2008 ; Bohlin et al., 2010). En parallèle, il a été essayé d'estimer le volume analysé par les capteurs, mais les estimations ont varié très fortement entre les essais (entre 1 et 7 m<sup>3</sup> par jour) (Wania et al., 2003 ; Shoeib et Harner, 2002 ; Tuduri et al., 2006). Ainsi, il reste difficile de rapporter une quantité d'HAPs mesurée sur un capteur à un volume d'air précis, et à l'heure actuelle les résultats doivent être considérés comme semi-quantitatifs.

En parallèle aux analyses d'air, il a été essayé d'évaluer l'exposition humaine aux HAPs par des analyses sur les matrices biologiques. Jongeneelen et al. (1987) ont proposé de doser le 1-hydroxypyrene, un métabolite du pyrène (voir § I.1.2.1.3. page 21), dans les urines pour donner une image représentative de la quantité en HAPs incorporés par l'homme. Des

populations de personnes ayant différentes habitudes personnelles ont été comparées, et il a été observé que les fumeurs, les applicateurs de goudron, les ouvriers de cokeries et les personnes mangeant beaucoup de viande grillée, sont exposés davantage aux HAPs (Zhao et al., 1992 ; Jongeneelen, 1994 ; Siwińska et al., 1998 ; Strickland et Kang, 1999 ; Li et al., 2000 ; Lamotte et al., 2003 ; Huang et al., 2004). Pourtant, le 1-hydroxypyrene n'étant marqueur biologique que de l'exposition de l'homme au pyrene, des doutes sur la représentativité de ce métabolite pour toute la famille des HAPs sont apparus. En conséquence, la gamme des métabolites à doser a été élargie, et à l'heure actuelle, les métabolites du naphthalène, du fluorène, du phénanthrène, du benzo(c)phénanthrène, du pyrene, du benzo(a)anthracène, du chrysène et du benzo(a)pyrene sont dosés régulièrement dans les urines humaines (p.ex. Smith et al., 2002 ; Elovaara et al., 2003, 2006 ; Väänänen et al., 2003, 2006 ; Kuusimäki et al., 2004 ; Chetiyankornkul et al., 2006 ; Romanoff et al., 2006). Ceci a permis de confirmer l'exposition élevée aux HAPs que subissent les fumeurs (Elovaara et al., 2006) et les applicateurs de goudron (Väänänen et al., 2003). Bien que d'autres métabolites aient également été dosés dans les urines (p.ex. 1-hydroxypyrene glucuronide, 1,8-dihydroxypyrene) (Jacob et al., 1982 ; Hong et al., 1999 ; Fagundes et al., 2006), les métabolites monohydroxylés sont aujourd'hui les biomarqueurs de référence et leur dosage donne une image assez bonne de l'exposition humaine aux HAPs au moment du prélèvement. Pourtant, la fenêtre de détection assez restreinte des urines (6 à 35 heures pour le 1-hydroxypyrene) (Jongeneelen et al., 1990) ne permet pas d'informer sur l'exposition chronique à ces composés. Afin d'accéder à des fenêtres de détection plus larges et donc compatibles avec l'évaluation de l'exposition chronique, Toriba et al. (2003) ont proposé de doser les HAPs dans les cheveux. Ils ont développé une méthode permettant l'analyse des 16 HAPs prioritaires, et 14 en ont été détectés dans les cheveux analysés. La comparaison des concentrations mesurées dans les cheveux de fumeurs et de non-fumeurs a permis de confirmer l'exposition plus élevée des fumeurs. Cette étude est à l'heure actuelle la seule ayant décrit le dosage d'HAPs dans les cheveux.

### **I.2.1.5. Limitations du biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs à l'heure actuelle**

- Limitations du ABM

Le nombre d'études existant à l'heure actuelle sur l'échantillonnage passif des HAPs atmosphériques est très restreint et peu de valeurs de référence sont disponibles pour évaluer et interpréter les concentrations en HAPs mesurées. De plus, il n'est pas possible de rapporter avec précision une concentration en HAPs mesurée sur un capteur passif à un volume d'air analysé, et les résultats ne sont que semi-quantitatifs à l'heure actuelle. Il est donc actuellement possible de détecter des HAPs dans l'atmosphère et d'étudier des variations en fonction du site d'échantillonnage et, un peu moins, en fonction du temps, mais il n'est pas possible de mesurer avec précision la contamination de l'atmosphère sur un site précis. Pour ceci, d'autres études doivent être réalisées pour augmenter le nombre de valeurs de référence et approfondir les connaissances sur les mécanismes d'adsorption afin d'obtenir des résultats quantitatifs.

- Limitations du HBM

Il a été montré par Toriba et al. (2003) que la mise en évidence de l'exposition humaine aux HAPs peut être faite en dosant les HAPs dans les cheveux. Pourtant, avec cette méthode, il n'a pas été possible de distinguer avec certitude les HAPs présents à l'intérieur du cheveu incorporés par voie biologique et les molécules à la surface du cheveu représentatives d'une contamination externe. Des essais d'élimination de la contamination de la surface ont été faits en lavant les cheveux avec différents solvants organiques (méthanol, hexane, dichlorométhane), mais les observations font supposer que les solvants organiques utilisés n'aient soit pas enlevé la totalité de la contamination externe, soit enlevé une partie des HAPs se trouvant à l'intérieur des cheveux. Ceci peut être dû au fait que certains solvants ont la propriété d'altérer légèrement la structure du cheveu et d'enlever une partie des substances incorporées (Borella et al., 1996). La méthode présentée par Toriba et al. (2003) pour mettre en évidence l'exposition humaine aux HAPs présente donc un risque non négligeable de sur- ou de sous-estimation des concentrations mesurées. Il faut trouver un

moyen pour réduire l'influence de la contamination externe au maximum, soit en développant un protocole de lavage plus efficace, soit en trouvant des biomarqueurs alternatifs absents dans l'environnement et donc peu susceptibles d'entraîner une contamination externe.

## **I.2.2. Les pesticides**

Le terme « pesticide » regroupe des substances utilisées pour lutter contre des organismes nuisibles. Les pesticides sont subdivisés en plusieurs sous-groupes selon leur mode d'action : fongicides, herbicides, insecticides, acaricides, *etc.*

### **I.2.2.1. Origines et formation des pesticides**

La synthèse des premiers pesticides remonte au 19<sup>ème</sup> siècle quand Michael Faraday synthétisait le Lindane à Londres (en 1825) et Othmar Zeidler décrivait la synthèse du DDT dans le cadre de sa thèse de doctorat à l'Université de Strasbourg (en 1873) (Friedman, 1992 ; Testard et Zemb, 1998). La commercialisation de ces pesticides a commencé dans les années 1940 et leur utilisation s'est rapidement répandue (Murphy, 2005). Les décennies suivantes étaient marquées par l'utilisation importante de pesticides et de nouveaux produits comme le Malathion, le Parathion ou le Diuron ont été synthétisés. Cette utilisation importante de pesticides menait malheureusement à des accidents graves, montrant la toxicité de ces substances et les effets qu'elles peuvent avoir sur la santé humaine. A titre d'exemple, un pesticide très utilisé dans les années 1970 sur les cultures de bananes au Nicaragua, le Dibromochloropropane (DBCP), a été soupçonné d'être responsable de la mort d'au moins 83 personnes et de la stérilité de plusieurs milliers d'autres. Au vu de ces effets, la production de ce pesticide a été arrêtée en 1975, mais certains producteurs de bananes comme Del Monte et Chiquita ont continué à l'utiliser jusqu'en 1977 et Dole jusqu'en 1979 (Pimentel et al., 1991). De tels accidents ont finalement mené à l'interdiction de la production et de l'utilisation de certains pesticides et à la sensibilisation de la population à la toxicité des pesticides. Les produits interdits (DDT, Lindane, *etc.*) ont été remplacés par des

produits comme les pyréthriinoïdes ayant une toxicité réduite pour les hommes mais plus élevée pour les insectes et permettant en même temps de diminuer les quantités appliquées (Angerer et al., 2007). Les quantités de pesticides utilisées aujourd'hui restent élevées avec plus de 2,3 millions de tonnes appliquées par an dans le monde entier (Miller, 2002).

### **I.2.2.2. Sources de l'exposition humaine aux pesticides**

L'exposition des hommes aux pesticides peut avoir des origines très diverses, variant fortement en nature et en intensité selon de nombreux paramètres comme la profession, l'alimentation, le lieu de résidence, *etc.*

L'exposition liée à la profession concerne avant tout les personnes travaillant dans l'agriculture. Cette exposition concerne non seulement les personnes appliquant les pesticides, mais également leurs familles et les gens habitant dans l'entourage direct des exploitations agricoles. Il a été montré par Fenske et al. (2000) que les enfants de personnes travaillant dans l'agriculture ont une exposition plus élevée aux pesticides que les autres enfants. Dans ce contexte il a été estimé que l'incorporation moyenne des enfants exposés soit comprise entre 0 et 36  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{jour}/\text{pesticide}$  dans les périodes de traitement (Fenske et al., 2000). Pour un enfant de 30 kg, ceci correspond à une dose journalière pouvant aller jusqu'à 1  $\text{mg}/\text{jour}/\text{pesticide}$ .

Une voie d'exposition qui concerne la population générale est la respiration de l'air contenant des pesticides. Sachant que des concentrations en pesticides dans l'air de 0,004 à 150  $\text{ng}/\text{m}^3$  ont été mesurées aux Etats-Unis, en France et au Canada (Peck et Hornbuckle, 2005 ; Scheyer et al., 2007 ; Sadiki et Poissant, 2008 ; Schummer et al., 2010a), la quantité absorbée par une personne à travers la respiration peut varier entre 40 pg et 1,5  $\mu\text{g}/\text{pesticide}/\text{jour}$  en considérant une inhalation journalière (au repos) de 10  $\text{m}^3$  d'air (Jacob et Seidel, 2002).

Une autre source d'exposition est l'alimentation. Des résidus de pesticides sont trouvés dans beaucoup d'aliments (Fontcuberta et al., 2008) et l'homme y est exposé par ingestion. La dose journalière ingérée par une personne dépend fortement des habitudes alimentaires individuelles. Ainsi, des gens ayant une alimentation comprenant plutôt de la viande et des

œufs absorbent plus de pesticides que des personnes ayant une alimentation basée essentiellement sur des fruits et des légumes (van Audenhaege et al., 2009 ; Iñigo-Nuñez et al., 2010). Les estimations de la dose journalière absorbée par l'alimentation varient entre 0,001 et 2,5 µg/kg/jour/pesticide (Soler et al., 2007 ; Iñigo-Nuñez et al., 2010). Pour un adulte de 70 kg, ceci correspond à une incorporation journalière comprise entre 0,07 et 175 µg/pesticide.

Les principales sources de l'exposition humaine ont été décrites ci-dessus, mais cette liste n'est pas exhaustive. De même que pour les sources de l'exposition humaine aux HAPs (voir § 1.2.1.2. page 20), l'exposition des hommes aux pesticides est liée à plusieurs facteurs à importance variable selon la profession, le lieu d'habitation et les habitudes alimentaires. Si la dose journalière incorporée est difficile à évaluer, les chiffres ci-dessus montrent qu'elle est toutefois notable et concerne la population entière d'une manière ou d'une autre.

### **1.2.2.3. Effets engendrés par l'exposition aux pesticides**

Contrairement aux HAPs, une exposition aiguë aux pesticides n'est pas improbable, en particulier pour les personnes utilisant des pesticides dans le cadre de leur activité professionnelle. Les conséquences les plus courantes en sont des maux de tête, des nausées, des lésions de la peau comme le chloracné ou, plus rarement, des affections hépatiques, neurologiques ou du système nerveux, et la stérilité (WHO 2004, 2007 ; Dulaurent et al., 2008). Dans le pire des cas, une exposition aiguë aux pesticides peut être mortelle (Proença et al., 2003, 2005).

Dans le cadre d'expositions chroniques, des augmentations de cancers comme ceux de la prostate, des testicules, des ovaires, de l'estomac et des leucémies ont été observées auprès de personnes exposées aux pesticides par leur profession (Viel et al., 1998 ; Meyer et al., 2003). Une augmentation du risque de la maladie de Parkinson de 9 % pour les jardiniers amateurs et de 43 % pour les agriculteurs a été constatée (Coughlan, 2005). A côté de ces affections, l'exposition chronique aux pesticides est supposée induire la stérilité des personnes exposées ou de leurs enfants (Charlier et Foidart, 2005), le retard de la croissance

foétale si la mère était exposée de façon chronique à des pesticides (Levario-Carillo et al., 2004), et des malformations congénitales (Sanchez-Pena et al., 2004). Il faut cependant dire que la majorité des affections mentionnées ci-dessus se rapportent à des pesticides dont l'usage est interdit aujourd'hui (méthyl-Parathion, Lindane), alors que peu de données sur les effets d'une exposition chronique aux pesticides utilisés actuellement sont disponibles. Les pesticides utilisés aujourd'hui, comme les pyréthriinoïdes, sont en général des produits relativement peu stables qui se décomposent rapidement après l'incorporation dans l'organisme. Ils ont souvent une neurotoxicité élevée pour les insectes et moindre pour les êtres humains (Angerer et al., 2007). Ceci permet en plus de diminuer les quantités devant être appliquées sur les champs.

#### **I.2.2.4. Etat de l'art du biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides**

La prise de conscience des risques pour la santé et les écosystèmes associés à l'utilisation de pesticides, est à l'origine des premières analyses de monitoring des pesticides dans l'atmosphère (<http://www.epa.gov/history/publications/formative6.htm>). Ainsi, les premiers échantillonnages d'air ayant pour but le dosage de pesticides, réalisés au début des années 1970, ont confirmé la présence de pesticides dans l'atmosphère. Leur provenance s'explique notamment par la dérive des pesticides lors des applications sur les champs et les volatilisations à partir des feuilles et des sols après le traitement (Glotfelty et al., 1984 ; Gregor and Gummer, 1989 ; Majewski et al., 1993 ; Van der Werf, 1996). Une fois arrivés dans l'atmosphère, les pesticides sont rapidement dilués et répartis entre les différentes fractions de l'atmosphère (particulaire, gazeuse et aqueuse). Ce partage a des influences importantes sur le taux d'élimination des pesticides de l'atmosphère et leurs propriétés de transport sur de longues distances, vu que le temps de résidence des pesticides dans l'air est généralement plus long si les pesticides se trouvent en fraction gazeuse (Foreman et Bidleman, 1987 ; Hoff et al., 1992 ; Atkinson et al., 1999). D'autres paramètres ayant des influences sur l'élimination des pesticides de l'atmosphère sont la réactivité photochimique (Atkinson et al., 1999) et les coefficients de la loi de Henry des pesticides (Sanusi et al., 1999), les conditions météorologiques (température, pluie, humidité relative *etc.*) (Asman et al., 2005 ; Scheyer et al., 2006, 2007 ; Schummer et al., 2010a) et les conditions de surface



(surface sèche ou humide) (Chérif et Wortham, 1997). Ainsi, il a été montré que les concentrations atmosphériques en pesticides diminuent fortement après des pluies et augmentent si les températures montent (volatilisation de pesticides sur les sols et les plantes) (Schummer et al., 2010a). Ces observations ont permis d'étudier les concentrations atmosphériques sur des sites urbains et ruraux et d'analyser les variations de ces concentrations en fonction du lieu d'échantillonnage et du temps. Ainsi, Aulagnier et Poissant (2005) ont observé que les concentrations en pesticides organochlorés sur plusieurs sites au Canada sont plus élevées en été qu'en hiver, et que les HCHs sont majoritairement émis dans l'air par des volatilisations à partir de l'océan atlantique pendant que des pesticides comme le  $\gamma$ -Chlordane et le DDE y sont émis avant tout par des évaporations à partir du sol au sud du Québec. Dans une autre étude réalisée en France par Scheyer et al. (2007), il a été constaté que les concentrations atmosphériques en pesticides sont plus élevées aux sites ruraux où les pesticides sont utilisés qu'aux sites urbains. Cette observation a été confirmée par d'autres groupes de recherche dans d'autres régions du monde comme le Canada (Yao et al., 2006), les Etats-Unis (Cortes et al., 1998 ; Sun et al., 2006), et la Chine (Liu et al., 2009).

Les nombreuses études ainsi réalisées ont aussi montré les limitations de l'échantillonnage actif (encombrement, besoin d'énergie ; voir § I.1.1.1. page 7), ce qui a favorisé le développement de capteurs passifs au début des années 2000 (voir § I.1.1.2. page 8). Les premières études réalisées à l'aide de capteurs passifs à base de disques en mousse de polyuréthane ont été focalisées sur l'analyse des variations spatiales et temporelles de la contamination atmosphérique en pesticides organochlorés (Jaward et al., 2004 ; Harner et al., 2006 ; Gouin et al., 2008). Il a été confirmé que les concentrations atmosphériques des pesticides sont plus élevées à proximité des sites agricoles où les pesticides sont appliqués et que ces concentrations varient avec le temps. Ceci a permis d'identifier des applications de pesticides et de les situer dans le temps. Ainsi, il a été possible d'observer une utilisation importante de  $\alpha$ -Endosulfan, un insecticide, à Egbert (Ontario, Canada) en août 2003 (Gouin et al., 2008). Les premiers résultats des analyses d'air à l'aide de capteurs à base de disques en mousse de polyuréthane sont donc très positifs en ce qui concerne les pesticides organochlorés. Pourtant, tous les pesticides non-organochlorés (p.ex. Trifluraline) ne s'adsorbent pas bien sur cet adsorbant (Dobson et al., 2006). La contamination de

l'atmosphère en pesticides (organochlorés et autres comme Trifluraline, Pendiméthaline et Chlorthalonyl) a également été étudiée à l'aide de capteurs passifs à base de résine XAD-2 (Harner et al., 2010 ; Wang et al., 2010). Ces capteurs ont, eux aussi, confirmé que les concentrations sont maximales à proximité des zones d'application de pesticides. Ainsi, il a été possible de localiser des concentrations élevées en DDT à Quamdo (Tibet de l'est) et un nivellement de ces concentrations en direction de la frontière chinoise (Wang et al., 2010). Ceci suggère qu'il est possible d'étudier le transport des pesticides à l'aide de ces capteurs passifs.

En ce qui concerne le « human biomonitoring », les premiers travaux réalisés par Elliott et al. (1960) se sont concentrés sur le dosage de métabolites de pesticides dans les urines (p.ex. le paranitrophénol, métabolite du Parathion). Par la suite, la liste des métabolites recherchés a été complétée en fonction de l'apparition de nouveaux produits sur le marché, par exemple les pyréthriinoïdes (p.ex. Cyperméthrine,  $\alpha$ -Cyperméthrine) (Eadsford et al., 1988 ; He et al., 1988 ; Angerer et Ritter, 1997) ou les esters de l'acide dithiophosphorique (p.ex. Malathion) (Vasilic et al., 1999). A l'heure actuelle, les analyses d'urines sont souvent utilisées pour mettre en évidence des expositions récentes aux pesticides (Heudorf et Angerer, 2001a ; Oglobline et al., 2001 ; Heudorf et al., 2006 ; Vucinic et al., 2007).

Les analyses de sang pour le HBM de l'exposition humaine aux pesticides ont commencé peu de temps après les premières analyses d'urines. L'avantage du sang par rapport aux urines est que les substances mères y sont beaucoup plus concentrées, ce qui rend leur détection plus facile (Thabet et al., 2009). Un des premiers pesticides dosé dans le sang était le Parathion (Roan et al., 1969). Par la suite, différents pesticides organochlorés et organophosphorés y ont été dosés, souvent dans le cadre de l'identification d'intoxications aiguës aux pesticides (Fournier et al., 1978 ; Baumann et al., 1980 ; Telch et Jarvis, 1982). A l'heure actuelle, des métabolites de pesticides et des molécules mères sont dosés dans le sang pour mettre en évidence des expositions récentes aux pesticides et pour contrôler l'exposition de la population à quelques pesticides organochlorés persistants (DDT, Chlordane, Aldrine, etc.), interdits depuis de nombreuses années, mais toujours présents dans l'environnement (Angerer et al., 2007).

Aux analyses d'urines et de sang se sont rajoutées les analyses de cheveux vers la fin des années 1990. Les premiers pesticides organochlorés (DDTs, HCHs) ont été mis en évidence dans les cheveux par Dauberschmidt et Wennig (1998), Cirimele et al. (1999) et Neuber et al. (1999). Ces études ont démontré la possibilité de mettre en évidence une exposition humaine aux pesticides à l'aide d'analyses de cheveux et, au cours de la dernière décennie, de nombreux pesticides organochlorés (Covaci et Schepens, 2001 ; Covaci et al., 2002, 2008 ; Altshul et al., 2004 ; Gill et al., 2004 ; Tsatsakis et Tutudaki, 2004 ; Villain et al., 2004 ; Ostrea et al., 2006, 2008, 2009 ; Posecion et al., 2006 ; Zhang et al., 2007 ; Tsatsakis et al., 2008), organophosphorés (Tsatsakis et al., 2008, 2009, 2010), pyréthriinoïdes (carbamates, chloroacétanilides) (Ostrea et al., 2006, 2008, 2009 ; Posecion et al., 2006) et quelques autres (Alachlore, Carbofuran) (Dulaurent et al., 2008) y ont été détectés. Ces analyses ont été faites majoritairement dans le but de mettre en évidence des expositions chroniques d'une personne ou d'un groupe de personnes à des pesticides organochlorés. Dans quelques études, il a été essayé en plus d'étudier les variations dans les concentrations en pesticides mesurées dans les cheveux de différentes personnes. Ainsi, Zhang et al. (2007) ont étudié les variations dans les concentrations en pesticides organochlorés mesurées dans les cheveux d'enfants chinois et observé que les concentrations dans les cheveux d'enfants habitant dans des zones urbaines sont plus élevées que celles d'enfants habitant dans des zones rurales. Dans une autre étude, Tsatsakis et al. (2008) ont étudié les variations dans les concentrations mesurées dans les cheveux de personnes d'une même région (Crète, Grèce) travaillant dans l'agriculture. Ils ont observé que les personnes travaillant dans des serres sont plus exposées aux pesticides organochlorés que les personnes travaillant dans l'élevage d'animaux ou dans l'agriculture sur les champs.

Dans certaines des études citées précédemment, il a été supposé que la contamination externe peut avoir des influences sur les concentrations mesurées (Ostrea et al., 2006 ; Covaci et al., 2008 ; Tsatsakis et al., 2008), et différents protocoles de décontamination des cheveux ont été proposés. Ces protocoles étaient basés entre autres sur des lavages successifs des cheveux à l'eau distillée et au méthanol (Tutudaki et Tsatsakis, 2005 ; Tsatsakis et al., 2008) ou à l'eau distillée et au dichlorométhane (Dulaurent et al., 2008), mais l'efficacité de ces protocoles de décontamination n'a pas été testée. Ainsi, il n'y a actuellement aucune procédure de décontamination des cheveux généralement admise.

### **I.2.2.5. Limitations du biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides à l'heure actuelle**

- Limitations du ABM

Les études réalisées précédemment sur l'échantillonnage passif de l'air ont été faites presque exclusivement sur les pesticides organochlorés (HCHs, DDTs, DDEs, *etc.*), alors que la majorité des pesticides utilisés actuellement dans l'agriculture n'ont pas encore été étudiés. Pourtant, des analyses réalisées avec des capteurs actifs montrent que les concentrations atmosphériques de ces pesticides sont de loin supérieures à celles des pesticides organochlorés (Peck and Hornbuckle, 2005 ; Sadiki et Poissant, 2008). De même, il n'y a actuellement pas d'informations sur la possibilité d'utiliser les capteurs passifs pour étudier les variations de leurs concentrations atmosphériques en fonction du site d'échantillonnage et du temps.

Une autre limitation du ABM à l'aide de capteurs passifs s'appliquant à tous les polluants organiques, est le manque de connaissances sur les mécanismes d'adsorption des molécules sur les capteurs passifs (voir § I.1.1.2. page 8). Pourtant, des connaissances précises sur ces mécanismes sont indispensables pour pouvoir interpréter correctement les concentrations en pesticides mesurées sur les capteurs passifs, comme le volume d'air analysé ne peut pas être déterminé avec précision si les mécanismes d'adsorption ne sont pas connus.

- Limitations du HBM

De même que pour l'ABM, les analyses de pesticides dans les cheveux ont été faites presque uniquement sur les pesticides organochlorés. Pourtant, pour donner une image complète de l'exposition humaine aux pesticides, il faut obligatoirement inclure les pesticides utilisés actuellement dans la liste des composés recherchés dans les cheveux. Une autre limitation importante est le manque d'un protocole de décontamination des cheveux satisfaisant qui permet d'éviter les influences de contaminations externes sur les résultats (voir I.2.2.4. page 30).

Il n'est pas connu non plus à l'heure actuelle si les analyses de cheveux permettent d'informer sur des expositions ayant eu lieu dans le passé. Ceci est particulièrement important comme l'idée principale du dosage des pesticides dans les cheveux est d'avoir accès à des informations sur l'exposition humaine chronique à ces composés. Si des tests ont montré que ceci est bien possible en toxicologie médico-légale pour des xénobiotiques comme l'éthyle glucuronide, un métabolite de l'alcool (Appenzeller et al., 2005), ou les amphétamines (Martins Ferreira et al., 2005), de telles informations n'existent pas encore en ce qui concerne les pesticides.

Finalement, les analyses de cheveux concernant tous les polluants organiques sont limitées par le manque de connaissances sur les mécanismes d'incorporation des molécules dans les cheveux. Plusieurs hypothèses existent à l'heure actuelle (voir § 1.1.2.2. page 15), mais les connaissances doivent être concrétisées afin de permettre des interprétations plus réalistes des résultats des analyses de cheveux.

## **I.3. Les objectifs de ces travaux de thèse**


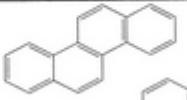



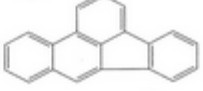

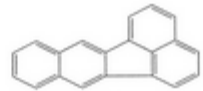



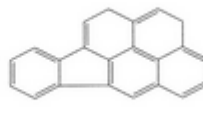
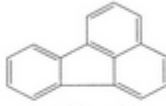




Le but des présents travaux de thèse était de faire une étude détaillée sur les analyses d'air à l'aide d'échantillonnages passifs et sur les analyses de cheveux, afin de proposer une première approche combinée pour le biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides.

### **I.3.1. Les objectifs du biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs**

- Les objectifs du ABM

Il a été décidé d'utiliser des capteurs passifs à base de résine XAD-2 pour l'« Ambient Biomonitoring » (ABM), vu qu'à cause du nombre limité de capteurs disponibles, il fallait analyser les HAPs et les pesticides avec les mêmes capteurs. La résine XAD-2 est mieux adaptée à l'échantillonnage de pesticides (Dobson et al., 2006) et elle a également donné de très bons résultats pour les HAPs dans des études d'échantillonnage actif (en ce qui concerne l'adsorption des HAPs et les rendements d'extraction de la résine) (Xu et al., 1999 ; Morville et al., 2004). Par contre, cette résine n'a encore jamais été utilisée pour l'échantillonnage passif des HAPs. Il fallait donc d'abord vérifier si les HAPs s'adsorbent sur cette résine à des quantités mesurables suite au flux d'air non-forcé s'établissant entre le capteur et l'air. Les HAPs recherchés dans cette étude étaient les 16 HAPs les plus abondants dans l'atmosphère selon l'US-EPA (naphtalène ( $C_{10}H_8$ ) à dibenzo(a,h)antracène ( $C_{22}H_{14}$ )). Il a été décidé d'inclure également le benzo(c)phénanthrène, car un de ses métabolites, le benzo(c)phénanthrène-3,4-diol-1,2-époxyde [B(c)PhDE], est parmi les époxydes les plus cancérigènes actuellement connus (Levin et al., 1980 ; Amin et al., 1993 ; Hecht et al., 1994). La liste complète des HAPs analysés est donnée dans le tableau I.1.

**Tableau I.1 :** Structures, noms et abréviations (Abrév.) des HAPs analysés dans l'air

Structure	Composé	Abrév.	Structure	Composé	Abrév.
	Naphtalène	Nap		Chrysène	Chr
	Acénaphtylène	AcPy		Dibenzo(a,h)anthracène	DBA
	Acénaphtène	AcP		Benzo(b)fluoranthène	BbFL
	Fluorène	Flu		Benzo(k)fluoranthène	BkFL
	Phénanthrène	Phe		Benzo(a)pyrène	BaP
	Anthracène	Ant		Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	InP
	Fluoranthène	Fluo		Pyrène	Pyr
	Benzo(a)anthracène	BaA		Benzo(g,h,i)pérylène	BghiP
	Benzo(c)phénanthrène	BcP			

Le rôle du ABM est entre autres d'aider à localiser les sources de l'exposition humaine aux HAPs. Pour ceci, il faut que les capteurs puissent fournir des informations précises sur les variations des concentrations atmosphériques des HAPs en fonction du lieu de prélèvement et en fonction du temps. Ceci a été étudié en installant plusieurs capteurs passifs sur des sites différents et en les remplaçant à des intervalles réguliers sur une durée complète d'un an. En parallèle, il a été étudié si la température et la durée de l'exposition des capteurs ont des influences sur l'échantillonnage. Ceci aidera à mieux comprendre les mécanismes d'adsorption des HAPs sur les capteurs et à donner des interprétations plus réalistes des concentrations mesurées.

- Les objectifs du HBM

En ce qui concerne la partie « Human Biomonitoring » (HBM), donc l'évaluation de l'exposition humaine aux HAPs à l'aide d'analyses de cheveux, il a été expliqué auparavant (§ I.1.2.1.4. page 23) que le dosage d'HAPs permet bien de mettre en évidence des différences dans l'exposition entre certains groupes de personnes (p.ex. entre fumeurs et non-fumeurs), mais que la contamination externe rend une interprétation réaliste des résultats très difficile. Pour limiter ce phénomène de contamination externe, il a été décidé de ne pas doser les HAPs mères dans les cheveux, mais plutôt leurs métabolites monohydroxylés (OH-HAPs) (voir §.I.1.2.1.3. page 21 et § I.1.2.1.4. page 23). Les OH-HAPs sont des métabolites biologiques des HAPs et devraient en principe être absents dans l'atmosphère. Pourtant, Simoneit et al. (2007) et Wang et al. (2007) ont mesuré de faibles concentrations de métabolites monohydroxylés du naphthalène dans l'air en Chine, ce qu'ils ont expliqué par une combustion locale importante de charbon pour la production d'énergie. Des centrales électriques à base de combustion de charbon existant également en Europe, nous ne pouvons pas exclure la présence d'OH-HAPs dans l'atmosphère de nos régions. Pour évaluer le risque de dépôts d'OH-HAPs sur les cheveux, nous avons choisi de profiter des capteurs passifs pour étudier la présence d'OH-HAPs dans l'air et pouvant se déposer sur les cheveux. La liste des OH-HAPs à analyser dans l'air et dans les cheveux a été établie sur base du tableau I.3 page 42, mais aussi en fonction des études réalisées précédemment sur les OH-HAPs dans les urines (voir § I.1.2.1.4. page 23) et de la disponibilité des métabolites dans le commerce. Ainsi, 12 métabolites monohydroxylés correspondant aux HAPs ayant 2, 3 et 4 cycles aromatiques condensés, ont été choisis pour cette étude (tableau I.2 page 39).



**Tableau I.2 :** Formules développées, noms et abréviations des OH-HAPs recherchés dans les cheveux et sur les capteurs passifs

Structure	Composé	Abréviation
	1-hydroxynaphtalène 2-hydroxynaphtalène	1-OHNAPH 2-OHNAPH
	2-hydroxyfluorène 9-hydroxyfluorène	2-OHFLU 9-OHFLU
	1-hydroxyphénanthrène 2-hydroxyphénanthrène 3-hydroxyphénanthrène 4-hydroxyphénanthrène 9-hydroxyphénanthrène	1-OHPHEN 2-OHPHEN 3-OHPHEN 4-OHPHEN 9-OHPHEN
	1-hydroxypyrrène	1-OHPYR
	2-hydroxybenzo(c)phénanthrène	2-OHBcP
	6-hydroxychrysène	6-OHCHRY

La présence d'OH-HAPs dans l'air se confirmant, il fallait estimer l'importance de la contamination externe en OH-HAPs sur les cheveux et réduire au maximum son influence sur les analyses. Ensuite, il fallait étudier si les OH-HAPs s'incorporent effectivement dans les cheveux à des quantités mesurables, vu que ces molécules n'ont encore jamais été détectées dans les cheveux auparavant. Finalement, des cheveux de fumeurs et de non-

fumeurs ont été analysés pour étudier si la plus forte exposition aux HAPs des fumeurs se remarque aussi en dosant les OH-HAPs dans les cheveux.

Les objectifs de ces travaux de thèse étaient donc, en ce qui concerne la partie sur le **biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs** :

pour la partie ABM :

- vérifier si les HAPs et les OH-HAPs s'adsorbent sur les capteurs passifs XAD-2
- étudier la possibilité d'utiliser les capteurs passifs pour mettre en évidence des variations dans les concentrations atmosphériques des HAPs et OH-HAPs en fonction du lieu d'échantillonnage et en fonction du temps
- étudier l'influence de la température et de la durée d'exposition des capteurs sur l'échantillonnage

pour la partie HBM :

- vérifier si les OH-HAPs s'incorporent dans les cheveux à des quantités mesurables
- analyser les cheveux de fumeurs et de non-fumeurs et étudier les variations dans les concentrations mesurées auprès des différentes personnes.

### **I.3.2. Les objectifs du biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides**

Les études réalisées jusqu'à présent sur l'exposition humaine aux pesticides portaient majoritairement sur des pesticides interdits aujourd'hui (pesticides organochlorés, certains pesticides organophosphorés comme le Parathion) et qui ne sont donc plus utilisés dans l'agriculture. Le but de cette étude était d'inclure dans le biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides les substances utilisées actuellement dans les traitements phytosanitaires.

- Les objectifs du ABM

Un problème majeur dans les études sur les pesticides agricoles actuellement utilisés est qu'il est quasiment impossible d'analyser tous les composés dans une seule étude, vu leur grand nombre et leurs propriétés physico-chimiques différentes. Il est donc nécessaire de travailler sur des sélections de pesticides représentatives des substances auxquelles l'exposition est la plus vraisemblable. La sélection dans cette étude a été faite en se basant sur l'inventaire des pesticides réalisé de 2003 à 2006 pour des campagnes d'études de la dérive des pesticides au niveau de parcelles de vignes, betteraves sucrières et houblon en Alsace (Rizet et al., 2004), ainsi que sur les données de l'Administration des Services Techniques de l'Agriculture du Luxembourg (<http://www.asta.etat.lu/astahome.html>), sur les rapports de traitement de 2006 de la coopérative luxembourgeoise Protvigne s.c. effectuant des traitements de pesticides par hélicoptère (<http://protvigne.org>), et sur la statistique des prix des produits phytosanitaires de 2004 du Service d'Economie Rurale du Luxembourg (Conter, 2005). Certains pesticides organochlorés ont également été recherchés dans les cheveux pour comparaison avec les résultats d'études existantes. La liste complète des pesticides analysés est présentée dans le tableau I.3 page 42, et les formules développées sont données dans les annexes (figure VI.1 page 194).

**Tableau I.3 :** Noms, modes d'action (fongicide, herbicide ou insecticide) et classes chimiques des pesticides analysés

pesticide	classe chimique	pesticide	classe chimique
<b>Fongicides</b>			
Azoxystrobine	strobilurines	Bénoxacor	<i>non classé</i>
Bupirimate	pyrimidines	Clomazone	<i>non classé</i>
Captane	dicarboximides	Diclofop méthyl	phénoxy-acides chlorés
Chlorothalonil	aromatiques	Diflufénicanil	anilides
Cyproconazole	triazolés	Diméthachlore	acétanilides
Cyprodinil	pyrimidines	Ethofumesate	benzofuranyl alkylsulfonates
Dinocap	dinitrophénols	Lenacile	uraciles
Epoxiconazole	triazolés	S-Metolachlore	acétanilides
Fénarimol	pyrimidines	Pendiméthaline	toluidines
Fenpropidine	<i>non classé</i>	Trifluraline	dinitroanilines
Flusilazole	triazolés	<b>Insecticides</b>	
Folpel	dicarboximides	Benfuracarbe	carbamates
Kresoxim méthyl	strobilurines	Bifenthrine	pyréthrinoïdes de synthèse
Mepaniprim	pyrimidines	Clofentezine	tétrazines
Metalaxyl-M	amides	λ-Cyhalothrine	pyréthrinoïdes de synthèse
Myclobutanil	triazolés	o,p'-DDE	organochlorés
Penconazole	triazolés	p,p'-DDE	organochlorés
Procymidon	dicarboximides	o,p'-DDT	organochlorés
Pyraclostrobine	strobilurines	p,p'-DDT	organochlorés
Pyriméthanil	pyrimidines	Deltaméthrine	pyréthrinoïdes de synthèse
Spiroxamine	<i>non classé</i>	Dichlorvos	ester de l'acide phosphorique
Tébuconazole	triazolés	Dieldrine	organochlorés
Tétraconazole	triazolés	α-Endosulfan	organochlorés
Tolyfluanide	amides	β-Endosulfan	organochlorés
Triadimenol	triazolés	Fénoxycarbe	carbamates
Trifloxystrobine	strobilurines	Fenpropathrine	pyréthrinoïdes de synthèse
Vinchlozoline	dicarboximides	α-HCH	organochlorés
Zoxamide	amides	β-HCH	organochlorés
<b>Herbicides</b>			
Acétochlore	acétanilides	δ-HCH	organochlorés
Aclonifen	nitrophényl ether	γ-HCH	organochlorés
Alachlore	acétanilides	Tébufenpyrad	pyrazoles

Il fallait vérifier en premier lieu si les pesticides ci-dessus s'adsorbent sur la résine XAD-2 suite à un flux d'air non-forcé, vu que la majorité de ces pesticides n'ont pas encore été

analysés à l'aide de capteurs passifs. Ensuite, les concentrations atmosphériques en pesticides sur différents sites urbains et ruraux ont été analysées et les variations de ces concentrations en fonction du site d'échantillonnage et du temps ont été étudiées. Ces variations ont été comparées à l'intensité de l'activité agricole sur les sites de prélèvement et à certains traitements spécifiques ayant lieu à des moments précis de l'année.

- Les objectifs du HBM

En ce qui concerne le HBM de l'exposition humaine à ces pesticides, il fallait développer un protocole de décontamination des cheveux avant l'analyse, qui permet d'enlever efficacement tous les pesticides déposés sur les cheveux. Le dosage de métabolites biologiques n'a pas été possible pour le HBM de l'exposition humaine aux pesticides parce que la métabolisation des pesticides est très complexe, et parce que tous les métabolites ne sont pas disponibles dans le commerce. Ainsi, il fallait se limiter à réduire au maximum les influences dues à la contamination externe.

Dans une deuxième approche, il fallait vérifier si les pesticides sélectionnés ci-dessus (tableau I.3 page 42) s'incorporent dans les cheveux à des quantités mesurables, vu que la majorité de ces composés n'ont pas encore été analysés dans les cheveux. Pour ceci, le protocole d'analyse développé a été appliqué à des échantillons de cheveux prélevés auprès d'agriculteurs et de viticulteurs. Ces personnes travaillent avec des pesticides à l'état concentré et sont donc particulièrement exposées aux substances recherchées. Ensuite, les concentrations mesurées auprès de différents volontaires ont été comparées entre elles, pour étudier si les analyses de cheveux permettent de mettre en évidence des différences dans l'exposition individuelle aux pesticides.

Dans une dernière approche, il a été étudié si les analyses de cheveux permettent d'informer sur des expositions ayant eu lieu dans le passé. Pour ceci, des prélèvements de cheveux répétés sur les mêmes personnes à des intervalles réguliers ont été faits. Les variations des concentrations de pesticides en fonction du temps ont été étudiées et comparées à l'évolution des concentrations des pesticides dans l'air. Certaines mèches ont été segmentées pour analyser l'évolution des concentrations de pesticides dans des

segments ayant des périodes de croissance identiques, mais ayant été prélevés à des moments différents.

Les objectifs de ces travaux de thèse étaient donc, en ce qui concerne la partie sur le **biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides** :

pour la partie ABM :

- vérifier si les pesticides analysés s'adsorbent sur les capteurs passifs XAD-2
- étudier la possibilité de mettre en évidence, avec les capteurs passifs, des variations dans les concentrations atmosphériques des pesticides en fonction du lieu d'échantillonnage et en fonction du temps

pour la partie HBM :

- vérifier si les pesticides analysés s'incorporent dans les cheveux à des quantités mesurables
- développer un protocole permettant d'éliminer efficacement la contamination externe des cheveux
- analyser les cheveux d'agriculteurs et de vignerons et étudier les variations dans les concentrations mesurées auprès des différentes personnes
- étudier si les analyses de cheveux permettent d'informer sur des expositions aux pesticides ayant eu lieu dans le passé.

## **Chapitre II : L'exposition humaine aux HAPs**

## **II.1. Analyse des HAPs et OH-HAPs dans l'air à l'aide de capteurs passifs**

Les objectifs de cette étude ont été de vérifier si les HAPs et les OH-HAPs dans l'air peuvent être prélevés avec des capteurs passifs à base de résine XAD-2 et d'étudier si des variations des concentrations de ces composés en fonction du site de prélèvement et en fonction du temps peuvent être mises en évidence. Il a également été étudié si le prélèvement des HAPs est influencé par la température ambiante et la durée d'exposition des capteurs en vue d'approfondir les connaissances sur les mécanismes d'adsorption de ces molécules sur les capteurs passifs. Le but de l'étude des OH-HAPs dans l'air a été avant tout d'évaluer les concentrations atmosphériques de ces composés au Luxembourg pour pouvoir estimer le risque de dépôts de ces molécules sur les cheveux humains.

### **II.1.1. Echantillonnage**

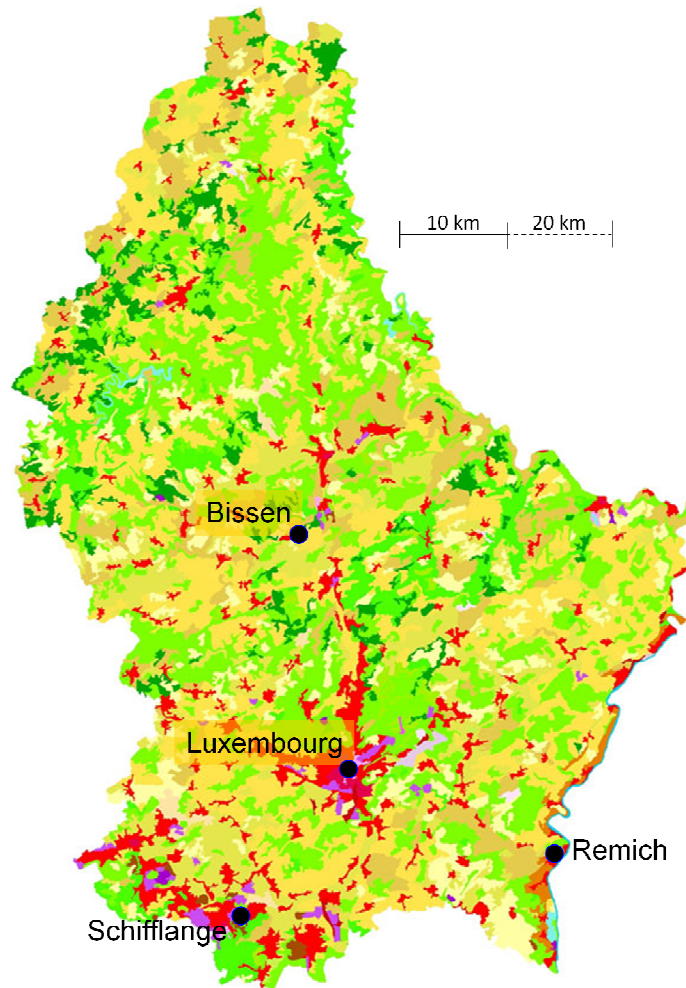
#### **II.1.1.1. Durée d'exposition des capteurs**

Les HAPs et les OH-HAPs n'ont pas encore fait l'objet d'échantillonnages avec des capteurs XAD-2, contrairement aux pesticides organochlorés pour lesquels plusieurs études sont disponibles dans la littérature scientifique (Wania et al., 2003 ; Hayward et al., 2010 ; Wang et al., 2010). Dans ces études, il a été suggéré d'exposer les capteurs passifs pendant un minimum de quatre semaines pour accumuler une quantité mesurable d'analytes. Vu qu'il n'a pas été prévu d'étudier des sites particulièrement pollués, le temps d'exposition des capteurs dans cette étude-ci a été fixé à un minimum de un mois. En vue de collecter suffisamment de données pour pouvoir étudier les variations temporelles, la durée totale de la campagne d'échantillonnage a été fixée à un an.



### II.1.1.2. Sites de prélèvement






Les prélèvements d'échantillons atmosphériques ont été faits à différents endroits au Luxembourg. Cinq sites ont été choisis dans un rayon d'environ 20 km, dont deux sites ruraux (Bissen et Remich), un site semi-urbain mais à circulation dense (Schifflange) et deux sites urbains (deux endroits à Luxembourg-Ville) (figures II.1.a et II.1.b).



**Figure II.1.a :** Localisation des sites de prélèvement (carte *Corine Land Cover* [<http://www.corinelandcover.com/Luxembourg>] montrant l'occupation biophysique des sols).

#### Légende simplifiée de la carte *Corine Land Cover* :

Cinq grands types d'occupation du sol sont définis :

- Territoires urbanisés 
- Territoires agricoles 
- Forêts et milieux semi-naturels 
- Zones humides 
- Surfaces en eau 



### **Bissen**

Site agricole (céréales)

· Autoroute (20 000 voitures/jour)

· Usines (tréfileries)



### **Remich**

Site agricole (viticulture)

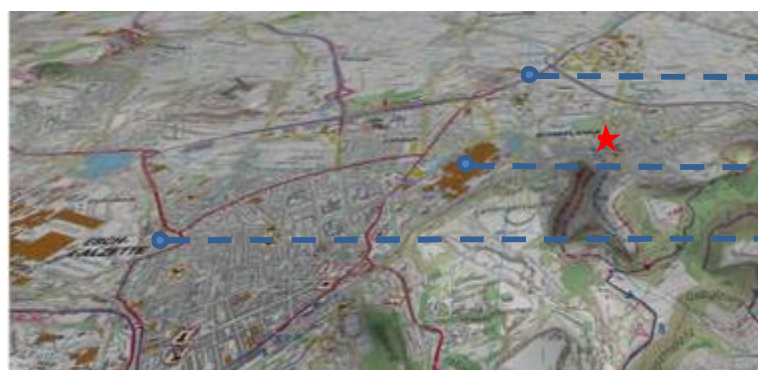
· Pont transfrontalier  
(8 500 voitures/jour)



### **Luxembourg**

· Quartier résidentiel

· Route très fréquentée  
(16 000 voitures/jour);  
Gare routière



### **Schifflange**

· Autoroute (45 000 voitures/jour)

· Usine (aciérie)

· Proximité d'Esch-sur-Alzette  
(28 700 habitants)

**Figure II.1.b :** Cartes 3D et description des sites de prélèvement (données fournies par l'Administration des Ponts et Chaussées, l'Administration du Cadastre et de la Topographie, et le Syndicat des Villes et des Communes du Luxembourg). Les emplacements des capteurs sont signalisés par une étoile rouge.

Les sites de Bissen et de Remich sont des sites ruraux, peu peuplés (2 800 habitants pour Bissen ; 3 100 habitants pour Remich), mais avec une activité agricole très développée. Bissen est situé à proximité d'une autoroute à circulation dense alors que le trafic routier à Remich est plutôt faible. A Bissen il y a deux sites industriels de moyenne importance (tréfileries). Remich ne dispose pas de site industriel notable, mais la localité se trouve au bord de la Moselle où il existe un certain trafic fluvial qui n'a pas pu être quantifié, vu le manque de données. Le site de Schifflange n'est pas très peuplé non plus (3 500 habitants), mais possède une activité industrielle très développée (aciéries) et se trouve à proximité de plusieurs routes et autoroutes très fréquentées du « bassin minier », une région à population dense autour de la ville d'Esch-sur-Alzette (figure II.1.b). A Luxembourg-Ville (85 000 habitants), deux emplacements ont été choisis soit « Luxembourg 1 » au nord de la ville sur le campus universitaire, c'est-à-dire en zone résidentielle, un peu à l'abri du trafic, et « Luxembourg 2 » en centre ville à côté d'une route très fréquentée et d'une gare routière.

Le capteur à Bissen a été fixé à une branche inférieure d'un arbre à une hauteur d'environ 2,5 mètres, le capteur à Remich sur une tige d'une station de mesures météorologiques, à une hauteur d'environ 1,5 mètres, et le capteur à Luxembourg 1 sur un support métallique à une hauteur d'environ 2,5 mètres. Ces trois capteurs ont donc été exposés au vent, ce qui n'a pas été tout à fait le cas pour les capteurs exposés aux sites de Luxembourg 2 où il a été fixé sur le rebord d'une fenêtre d'un immeuble à bureaux à une hauteur de 5 mètres, et de Schifflange où il a été fixé à côté d'une maison à une hauteur de 2 mètres du sol.

### **II.1.1.3. Périodicité des changements des capteurs**

Les échantillonnages ont débuté le 20 juin 2008 pour les sites de Bissen, Remich et Luxembourg 1, et le 26 septembre 2008 pour les sites de Schifflange et Luxembourg 2. Les périodes d'exposition du capteur ont varié entre 1 et 3 mois. La campagne d'échantillonnage a été arrêtée le 26 juin 2009 pour les sites de Bissen, Remich et Luxembourg 1, et le 20 octobre 2009 pour les deux autres sites. Ceci fait en sorte que la durée d'échantillonnage totale a été d'au moins un an pour chaque site. Le détail de la campagne d'échantillonnage est donné dans le tableau II.1 ci-dessous.

**Tableau II.1 :** Périodes d'échantillonnage aux différents sites

Bissen	Remich	Schiffange	Luxembourg 1	Luxembourg 2
20.06. – 21.07.08	20.06. – 21.07.08	26.09. – 31.10.08	20.06. – 21.07.08	26.09. – 31.10.08
21.07. – 19.08.08	21.07. – 19.08.08	31.10. – 28.11.08	21.07. – 19.08.08	31.10. – 28.11.08
19.08. – 26.09.08	19.08. – 26.09.08	28.11. – 28.01.09	19.08. – 26.09.08	28.11. – 28.01.09
26.09. – 31.10.08	26.09. – 31.10.08	28.01. – 02.04.09	26.09. – 31.10.08	28.01. – 07.04.09
31.10. – 30.11.08	31.10. – 29.12.08	02.04. – 27.06.09	31.10. – 30.11.08	07.04. – 26.06.09
30.11. – 29.12.08	29.12. – 09.02.09	27.06. – 15.09.09	30.11. – 29.12.08	26.06. – 15.09.09
29.12. – 10.02.09	09.02. – 09.03.09	15.09. – 20.10.09	29.12. – 10.02.09	15.09. – 20.10.09
10.02. – 09.03.09	09.03. – 16.04.09		10.02. – 09.03.09	
09.03. – 16.04.09	16.04. – 22.05.09		09.03. – 16.04.09	
16.04. – 22.05.09	22.05. – 26.06.09		16.04. – 22.05.09	
22.05. – 26.06.09			22.05. – 26.06.09	

Le nombre d'échantillons collectés a été de 7 pour les sites de Luxembourg 2 et Schiffange, de 10 pour le site de Remich et de 11 pour les sites de Bissen et Luxembourg 1.

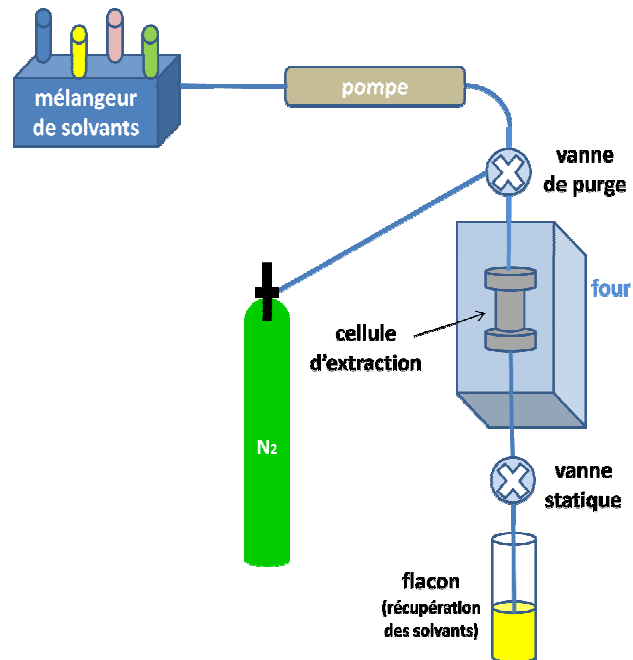
#### **II.1.1.4. Extraction et concentration des échantillons atmosphériques**

Après remplacement, chaque capteur a été emballé dans de l'aluminium et stocké à froid (4 °C) jusqu'à l'extraction. L'extraction des molécules a été faite par extraction solide-liquide utilisant l'acétonitrile dans des conditions extrêmes de température (150 °C) et de pression (100 bars) pour améliorer ses propriétés d'extraction. Ces conditions extrêmes ont été obtenues avec un appareil « ASE » (voir § II.1.1.4.1. ci-dessous). Les dimensions du capteur ont été adaptées à la cellule d'extraction ASE, ce qui a permis d'extraire la résine directement dans la grille maillée du capteur sans devoir la sortir.

##### **II.1.1.4.1. L'ASE**

L'ASE, abréviation de l'anglais de « Accelerated Solvent Extraction » (extraction accélérée par solvant), est une forme innovante de l'extraction solide-liquide, basée sur

l'usage de solvants à température et à pression très élevées (150 – 180 °C, 100 à 200 bars), ce qui augmente le pouvoir de dissolution des solvants et permet en général d'augmenter les rendements d'extraction. Un schéma du fonctionnement de l'extraction ASE est donné dans la figure II.2 ci-dessous.

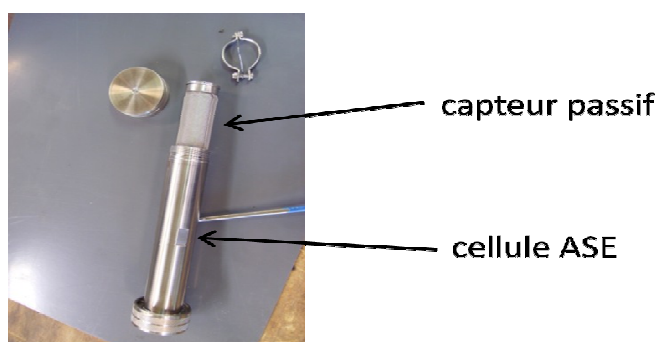


**Figure II.2 :** Schéma du fonctionnement de l'extraction ASE

Le capteur a été introduit dans une cellule en inox (figure II.3 page 52) qui supporte des températures et des pressions très élevées. Cette cellule a été placée dans un four et remplie d'acétonitrile. L'acétonitrile a été choisi comme solvant d'extraction parce qu'il est adapté à la fois à l'extraction des HAPs, des OH-HAPs et des pesticides et parce qu'il est miscible à l'eau et permet ainsi une extraction SPME (microextraction en phase solide / « solid-phase microextraction ») sur l'extrait obtenu (voir chapitre III sur les pesticides). D'autres solvants miscibles à l'eau ont également été testés (acétone, méthanol, tétrahydrofurane, etc.), mais ces solvants ont causé des interférences avec les fibres SPME et n'ont pas été adaptés à l'extraction des molécules recherchées.

La cellule a été chauffée à 150 °C et pressurisée à 100 bars pour maintenir l'acétonitrile sous forme liquide. L'acétonitrile a été laissé dans la cellule pendant 15 minutes pour se charger en analytes. Ensuite, le solvant a été sorti de la cellule et remplacé par de

l'acétonitrile neuf. Ce cycle a été répété trois fois et, à la fin du troisième cycle, l'acétonitrile a été retiré de la cellule par un flux d'azote. Le volume de l'extrait ainsi obtenu variait entre 80 et 120 mL. Après chaque extraction, un rinçage de l'appareil a été fait automatiquement pour éviter de contaminer le prochain échantillon. Dans les extraits de capteurs blancs ayant été réalisés directement après l'extraction de capteurs dopés, aucun HAP n'a été détecté, montrant l'efficacité de cette procédure de rinçage.



**Figure II.3 :** Cylindre maillé à dimensions compatibles avec son introduction directe dans une cellule ASE

Après l'extraction, le solvant récupéré a été concentré à 1 mL dans un évaporateur rotatif (40°C ; 250 mbar).

## **II.1.2. Détermination des HAPs sur les capteurs**

### **II.1.2.1. Analyse des HAPs**

Plusieurs techniques ont été proposées pour l'analyse d'HAPs. Ainsi, de très bons résultats (bonne répétabilité et basses limites de détection) ont été obtenus par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM) (Castello et Gerbina, 1993 ; Omar et al., 2002 ; Guo et al., 2003) et la chromatographie en phase liquide haute performance (CLHP) couplée à un détecteur à absorption UV (Dridi et al., 1998) ou fluorimétrique (Zhu et al., 1997 ; Morville, 2005). Des techniques alternatives comme l'électrophorèse capillaire ont été proposées (Höner et al., 1995), mais celles-ci sont

assez délicates à mettre en œuvre et n'ont pas su s'imposer face aux chromatographies en phase gazeuse ou liquide. La CLHP-fluorimétrie et la CPG-SM sont les plus utilisées, et des limites de détection plus basses sont généralement obtenues avec la CLHP-fluorimétrie. Pourtant, si la CPG-SM est couplée à un spectromètre de masse en tandem (SM/SM), les chromatogrammes présentent généralement moins de bruits de fond, ce qui permet d'abaisser considérablement les limites de détection. Pour cette raison, les analyses des HAPs ont été faites en CPG-SM/SM dans cette étude.

La séparation des HAPs a été faite sur un chromatographe 7890A d'Agilent et l'injection des extraits (1 µL) a été faite avec un système CombiPal de CTC Analytics. Une colonne HP-5MS (5% phényl-95% méthyl-siloxane) aux dimensions 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm a été utilisée pour la séparation chromatographique des HAPs, la chambre d'injection a été chauffée à 260 °C et la ligne de transfert à 250 °C. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur (débit : 1,8 mL/min) et l'injection a été faite en mode splitless pulsé. Le volume injecté a été de 1 µL. La meilleure séparation des 17 HAPs recherchés (voir tableau I.3 page 42) a été obtenue avec le programme de température suivant : 70 °C pendant 5 min., augmentation à 10 °C/min. jusqu'à 200 °C, gardé 0,5 min., augmentation à 5 °C/min. jusqu'à 244 °C, gardé 0,5 min., augmentation à 5 °C/min. jusqu'à 266 °C, gardé 0,5 min., augmentation à 5 °C/min. jusqu'à 300 °C, gardé 5,5 min. Après ce temps de statique, un « backflush » de 3 minutes a été fait, c'est-à-dire que de l'hélium a été introduit inversément dans la colonne pour renvoyer les molécules non éluées vers l'injecteur. Une analyse complète a ainsi duré 48 minutes. Les propriétés physico-chimiques du benzo(b)fluoranthène et du benzo(k)fluoranthène étant trop proches pour permettre une séparation complète, ces deux isomères ont été intégrés ensemble.

Les HAPs ont été analysés par spectrométrie de masse en tandem (triple-quadrupôle) en utilisant un spectromètre de masse 7000A d'Agilent à « triple quadrupôle ». La source, en mode impact électronique, a été chauffée à 230 °C. Ensuite, les ions sont entrés dans une cellule de collision remplie d'un gaz inerte (composé de 50 % d'hélium et de 50 % d'azote). Une tension de collision optimisée pour chaque composé analysé (voir tableau II.2 page 54) a été appliquée entre la source et la cellule de collision pour augmenter l'énergie cinétique

des ions sélectionnés. Dans la cellule de collision, les ions ont été fragmentés une deuxième fois, et les fragments ainsi formés ont été envoyés dans un deuxième quadripôle pour l'isolation finale. L'analyse SM a été réalisée en mode MRM (« multiple reaction monitoring ») ce qui a permis d'analyser tous les HAPs avec une seule méthode et donc en une seule injection. Les transitions et les tensions de collision utilisées pour la quantification et la qualification des molécules sont données dans le tableau II.2.

**Tableau II.2 :** Conditions de l'analyse en spectrométrie de masse des HAPs. Les transitions en gras ont été utilisées pour la quantification. Les HAPs dans un carré ont été analysés avec les mêmes transitions.

composé	ion parent (m/z)	tension de collision [V]	ion obtenu (m/z)	composé	ion parent (m/z)	tension de collision [V]	ion obtenu (m/z)
Nap	<b>128</b>	<b>5</b>	<b>128</b>	BaA	<b>228</b>	<b>4</b>	<b>228</b>
	128	25	102	BcP	228	33	202
	126	23	100	Chr	226	8	226
	102	18	76		114	11	101
AcPy	<b>152</b>	<b>3</b>	<b>152</b>		101	7	88
AcP	152	32	126	BbFL	<b>126</b>	<b>13</b>	<b>113</b>
	150	34	98	BkFL	252	4	252
Flu	<b>165</b>	<b>4</b>	<b>165</b>	BaP	252	39	226
	166	54	115		224	46	222
	166	47	139		113	13	112
Flu-D <sub>10</sub> *	<b>175</b>	<b>5</b>	<b>175</b>	BaP-D <sub>12</sub> *	<b>264</b>	<b>46</b>	<b>260</b>
	176	45	146		264	39	236
Phe	<b>176</b>	<b>22</b>	<b>150</b>	InP	<b>276</b>	<b>23</b>	<b>276</b>
Ant	152	22	126	BghiP	276	47	274
	151	17	125		138	25	124
Fluo	<b>202</b>	<b>55</b>	<b>174</b>	DBA	<b>278</b>	<b>23</b>	<b>278</b>
Pyr	200	22	174		278	50	276
	174	13	174		138	25	124

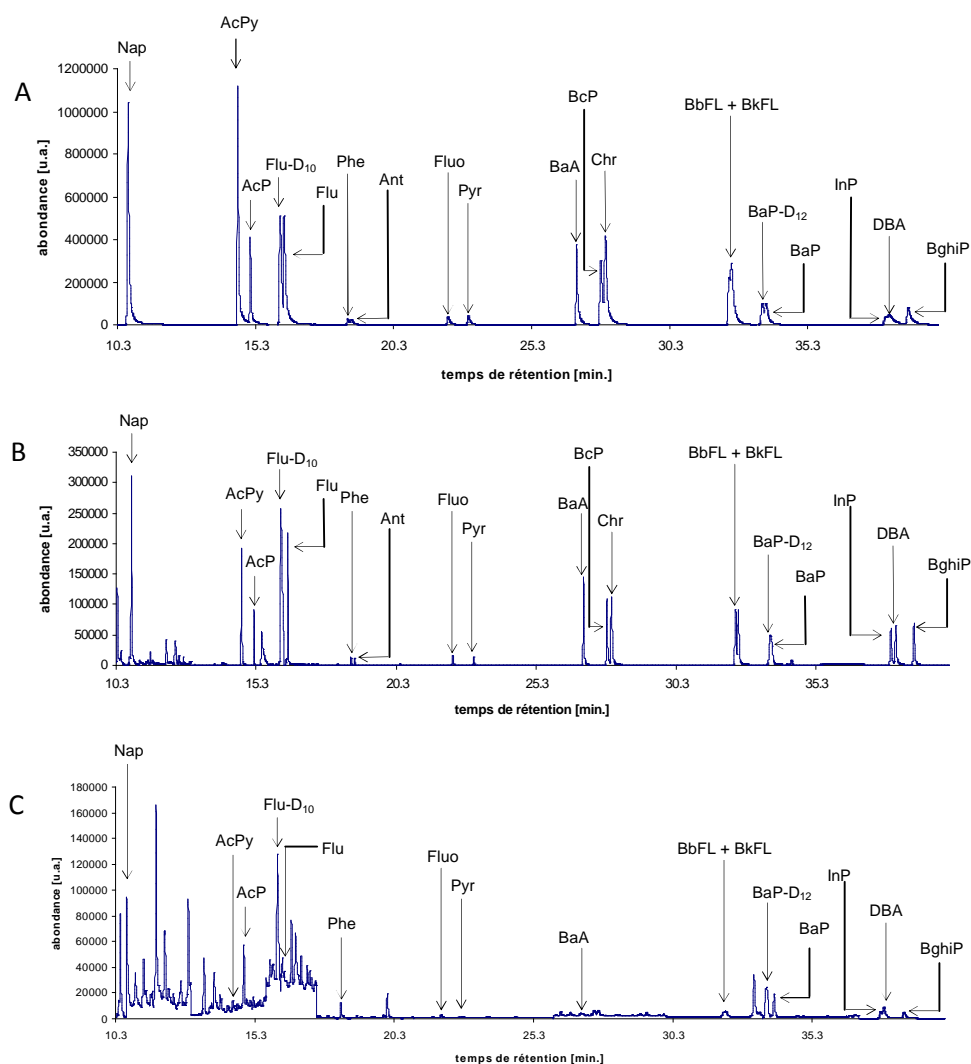
\* le fluorène et le benzo(a)pyrène deutérés ont été utilisés comme standard interne

### II.1.2.2. Validation de la méthode d'analyse

Pour tous les essais de calibration et de validation, des capteurs blancs ont été dopés avec des standards d'HAPs qui ont ensuite été extraits, concentrés et analysés selon les conditions décrites ci-dessus. La calibration a été faite pour 0, 1, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 et 1000 ng/capteur. Les extraits obtenus ont ensuite été dopés avec



5 ng de Flu-D<sub>10</sub> et BaP-D<sub>12</sub>. Les HAPs éluant entre le naphthalène ( $t_r = 10,68$  min.) et le pyrène ( $t_r = 23,01$  min.) ont été normalisés par rapport au fluorène-D<sub>10</sub>, et les autres par rapport au benzo(a)pyrène-D<sub>12</sub> (voir figure II.4 ci-dessous).



**Figure II.4:** Chromatogrammes obtenus après l'analyse d'une solution étalon contenant les 17 HAPs recherchés et les deux standards internes (A), d'un extrait d'un capteur blanc dopé avec des standards des 17 HAPs analysés et des deux standards internes (B), et de l'extrait du capteur exposé du 20 juin au 21 juillet 2008 au site Luxembourg 1 dopé avec les deux standards internes (C). Pour les chromatogrammes A et B, la concentration de chaque HAP est de 100 ng/capteur.

Les limites de détection (LD) ont été fixées comme étant la concentration la plus basse pour laquelle toutes les transitions définies pour un composé ont été identifiées, et les limites de quantification (LQ) comme étant dix fois le rapport signal/bruit. Les coefficients de variation (CV) intra- et inter-jour ainsi que les rendements d'extraction ont été déterminés en dopant des capteurs avec 500, 1000 et 5000 ng de naphthalène et avec 10, 100 et 500 ng des autres HAPs. Les essais ont été réalisés en triplicata. Les paramètres de validation sont donnés dans le tableau II.3.

**Tableau II.3 :** Paramètres de validation de l'analyse des HAPs. A, B et C représentent les quantités d'HAP déposées sur le capteur : A = 500 ng/capteur pour Nap et 10 ng/capteur pour les autres HAPs, B = 1000 ng/capteur pour Nap et 100 ng/capteur pour les autres HAPs et C = 5000 ng/capteur pour Nap et 500 ng/capteur pour les autres HAPs.  $t_r$  = temps de rétention ;  $R^2$  = coefficient de corrélation ; CV = coefficient de variation

composé	$t_r$ [min.]	$R^2$	CV intra-jour			CV inter-jour			LD [ng/capteur]	LQ	rendement d'extraction		
			A	B	C	A	B	C			A	B	C
Nap	10,68	0,993	12,5 %	7,3 %	9,4 %	11,0 %	4,1 %	10,4 %	0,1	1	61,1 %	54,1 %	54,8 %
AcPy	14,66	0,997	5,0 %	6,7 %	4,3 %	8,9 %	6,5 %	3,0 %	0,5	5	52,5 %	52,7 %	70,2 %
AcP	15,10	0,998	11,2 %	7,2 %	6,3 %	12,9 %	13,6 %	13,0 %	1	5	60,3 %	64,0 %	54,0 %
Flu	16,34	0,997	3,6 %	6,1 %	8,2 %	9,4 %	7,3 %	6,1 %	0,5	5	42,9 %	71,3 %	85,1 %
Phe	18,63	0,998	14,9 %	7,8 %	6,2 %	9,7 %	12,8 %	10,4 %	2,5	10	66,1 %	61,0 %	56,8 %
Ant	18,76	0,995	14,3 %	12,0 %	6,7 %	7,3 %	11,2 %	8,2 %	2,5	10	43,1 %	60,0 %	65,1 %
Fluo	22,27	0,992	13,3 %	9,3 %	6,6 %	11,0 %	6,0 %	9,2 %	1	2,5	67,7 %	67,3 %	79,1 %
Pyr	23,01	0,995	4,2 %	10,0 %	5,7 %	14,2 %	7,1 %	14,1 %	1	5	75,0 %	76,5 %	73,1 %
BaA	26,92	0,990	8,1 %	9,1 %	7,3 %	14,4 %	6,9 %	13,5 %	1	5	68,7 %	72,2 %	92,8 %
BcP	27,81	0,989	8,1 %	11,3 %	7,5 %	10,3 %	14,2 %	13,9 %	1	5	74,2 %	75,5 %	96,5 %
Chr	27,97	0,993	11,5 %	9,2 %	8,1 %	10,8 %	13,0 %	11,3 %	1	5	65,7 %	82,3 %	94,7 %
BbFL + BkFL	32,54	0,996	14,7 %	3,7 %	7,0 %	11,9 %	9,8 %	12,2 %	5	10	88,2 %	90,5 %	67,5 %
BaP	33,78	0,995	10,3 %	7,9 %	3,5 %	10,5 %	8,2 %	9,4 %	5	10	108,6 %	68,7 %	79,8 %
InP	38,13	0,988	13,1 %	10,3 %	8,4 %	12,1 %	14,9 %	6,0 %	2,5	10	104,6 %	100,4 %	95,5 %
BghiP	38,93	0,992	14,8 %	8,0 %	7,4 %	14,7 %	9,8 %	14,7 %	5	10	107,7 %	96,2 %	107,1 %
DBA	38,24	0,990	14,6 %	12,7 %	9,5 %	12,9 %	12,7 %	13,0 %	5	10	113,9 %	74,9 %	90,7 %

Les coefficients de corrélation ont tous été supérieurs à 0,98, montrant la linéarité des droites de calibration pour tous les composés sur tout le domaine de calibration.

Les coefficients de variation intra- et inter-jour ont varié respectivement entre 3,5 et 14,9 % et entre 3,0 et 14,9 %. Ces valeurs sont légèrement plus élevées que celles obtenues pour des extractions « classiques » au Soxhlet dans d'autres études (Guo et al., 2003 ; Morville, 2005), ce qui pourrait être dû au fait que, dans la présente étude, l'extraction a été faite avec de l'acétonitrile, alors que le solvant d'extraction dans les deux autres études mentionnées ci-dessus a été un mélange de dichlorométhane et d'hexane. Le point d'ébullition de l'acétonitrile (82 °C) étant plus élevé que celui des deux autres solvants (40 °C pour le dichlorométhane et 68,7 °C pour l'hexane), l'évaporation du solvant après extraction a été plus longue et a été faite avec un vide plus puissant (250 mbar dans cette étude contre 800 mbar et 335 mbar dans les deux autres études). Pourtant, ces conditions de concentrations plus poussées ne semblent pas avoir influencé les rendements des extractions, vu que les valeurs comprises entre 42,9 et 113,9 % sont comparables à celles décrites dans les études précitées.

### **II.1.2.3. Dosage des HAPs dans les extraits des capteurs**

Les capteurs ont été extraits, concentrés et analysés comme décrit précédemment. Les échantillons dont la concentration d'un composé est sortie du domaine de linéarité de la gamme, ont été dilués au dixième et réinjectés. Ceci a été le cas pour toutes les concentrations de naphthalène mesurées, et dans quelques échantillons pour le fluorène et le phénanthrène. Les concentrations mesurées et les fréquences de détections sont données dans le tableau II.4.

**Tableau II.4 :** Concentrations d'HAPs, médianes (en ng/capteur) et fréquences de détection (F.D.) aux cinq sites

composé	Bissen n = 11		Remich n = 10		Luxembourg 1 n = 11		Luxembourg 2 n = 7		Schiffange n = 7		F.D. [%]				
	médiane	F.D. [%]	médiane	F.D. [%]	médiane	F.D. [%]	médiane	F.D. [%]	médiane	F.D. [%]					
Nap	1162 - 9727	2781	100	1093 - 9247	3714	100	1733 - 9240	4435	100	3056 - 6074	3728	100	2022 - 6837	5248	100
AcPy	24,2 - 206,9	57,8	100	41,7 - 278,2	81,6	100	25,6 - 840,6	106,1	100	62,5 - 237,4	121,5	100	97,9 - 177,8	113,1	100
Ace	21,8 - 198,7	110,0	100	69,7 - 271,1	177,0	100	66,8 - 1587,3	203,6	100	19,2 - 392,0	191,3	100	107,4 - 245,2	166,2	100
Flu	36,9 - 355,5	123,7	100	39,8 - 514,0	220,4	100	84,8 - 1222	199,2	100	99,0 - 367,0	156,1	100	112,1 - 360,7	148,1	100
Phe	142,5 - 1361	413,3	100	269,9 - 1204	633,8	100	34,3 - 3321	466,2	100	441,5 - 868,3	500,3	100	342,5 - 694,2	600,7	100
Ant	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fluo	12,9 - 136,9	52,1	100	37,7 - 155,3	82,7	100	21,9 - 442,0	80,3	100	34,3 - 93,5	84,9	100	26,6 - 92,6	60,8	100
Pyr	10,4 - 131,6	28,9	100	11,6 - 66,0	32,2	100	2,5 - 102,4	19,1	100	10,9 - 41,2	24,1	100	10,4 - 56,6	25,3	100
BcP	< LQ	-	27	-	-	-	< LQ	-	9	-	-	-	-	-	-
BaA	< LQ - 30,7	29,9	27	28,6 - 30,3	29,5	20	28,4 - 30,1	28,7	27	-	-	-	-	-	-
Chr	< LQ	-	36	< LQ - 6,0	3,9	70	< LQ - 1,2	1,2	36	< LQ	-	14	< LQ	-	43
BbFL+BkFL	< LQ - 16,5	16,3	63	< LQ - 32,7	15,7	50	16,3 - 18,6	17,5	18	< LQ	-	43	< LQ	-	14
BaP	< LQ - 27,4	20,0	45	-	-	-	27,7	27,7	9	< LQ	-	28	< LQ	-	14
InP	< LQ - 47,0	46,7	63	45,5 - 49,7	47,1	70	46,0 - 76,1	47,0	72	46,0 - 46,8	46,3	71	46,2 - 48,3	46,4	57
BghiP	< LQ - 38,3	29,9	63	36,6 - 52,2	39,8	80	35,6 - 64,9	36,4	72	34,9 - 35,8	35,3	57	35,4 - 40,1	35,7	57
DBA	23,1 - 24,2	23,1	27	22,9 - 24,8	23,9	20	23,2 - 40,8	32,0	18	23,8	23,8	14	-	-	14

Le naphthalène, l'acénaphthylène, l'acénaphtène, le fluorène, le phénanthrène, le fluoranthène et le pyrène ont été détectés à des quantités > LQ dans tous les échantillons. Les concentrations les plus élevées ont été observées pour le naphthalène, suivi du phénanthrène. Cette observation a déjà été faite par d'autres groupes de recherche ayant analysé les HAPs dans l'air à l'aide de capteurs actifs (Possanzini et al., 2004 ; Morville, 2005 ; de Souza Pereira et al., 2007). Ils ont mesuré les concentrations les plus fortes pour le naphthalène, suivi de l'acénaphtène, de l'acénaphthylène et du phénanthrène. Les HAPs comprenant quatre noyaux aromatiques ou plus ont été détectés de façon irrégulière et à des concentrations très faibles. Ceci est également en accord avec d'autres études, mais les fréquences de détection de ces composés ont généralement été plus élevées dans les autres études (Possanzini et al., 2004 ; Morville, 2005 ; de Souza Pereira et al., 2007), puisque presque tous les HAPs recherchés – même l'anthracène qui n'a jamais été détecté dans cette étude, ont été détectés à des fréquences comprises entre 50 et 100 %. Le benzo(c)phénanthrène n'a jamais été mesuré à des quantités > LQ.

Le fait que l'anthracène n'a pas été détecté dans cette étude est en accord avec les résultats de l'étude de Morville (2005) qui a analysé les HAPs dans l'atmosphère de Strasbourg et qui n'a détecté l'anthracène qu'à des concentrations très faibles (environ 100 fois inférieures aux concentrations du phénanthrène). Il se peut donc que les concentrations d'anthracène sur les sites d'exposition des capteurs aient été trop faibles pour être détectées par ces capteurs passifs. Pour le benzo(c)phénanthrène, il est difficile de conclure sur sa non-détection car cet HAP ne figure pas sur la liste des 16 HAPs prioritaires de l'EPA et n'a pas été analysé dans les études précitées.

Bohlin et al. (2010) ont analysé les HAPs dans l'air à l'intérieur d'une fabrique de matières en plastique en Suède, utilisant des capteurs passifs à disque en mousse de polyuréthane. Les capteurs ont été exposés pendant six semaines, et les concentrations mesurées sur ces capteurs, variant entre 15 ng/capteur (Ind) et 28 000 (Fluo), ont été dans des ordres de grandeur similaires à ceux de la présente étude. Pourtant, les HAPs comprenant trois cycles aromatiques ont été les plus concentrés dans l'étude de Bohlin et al. (2010), et non pas le naphthalène qui a été le plus concentré sur les capteurs XAD-2 exposés dans cette étude-ci. Pourtant, l'atmosphère dans la fabrique a sûrement été fortement influencée par les HAPs émis lors des processus de fabrication des matières en plastique, ce

qui peut expliquer les différences avec les observations de cette étude ayant été faite à l'extérieur et à l'écart de sources émettant de grandes quantités d'HAPs.

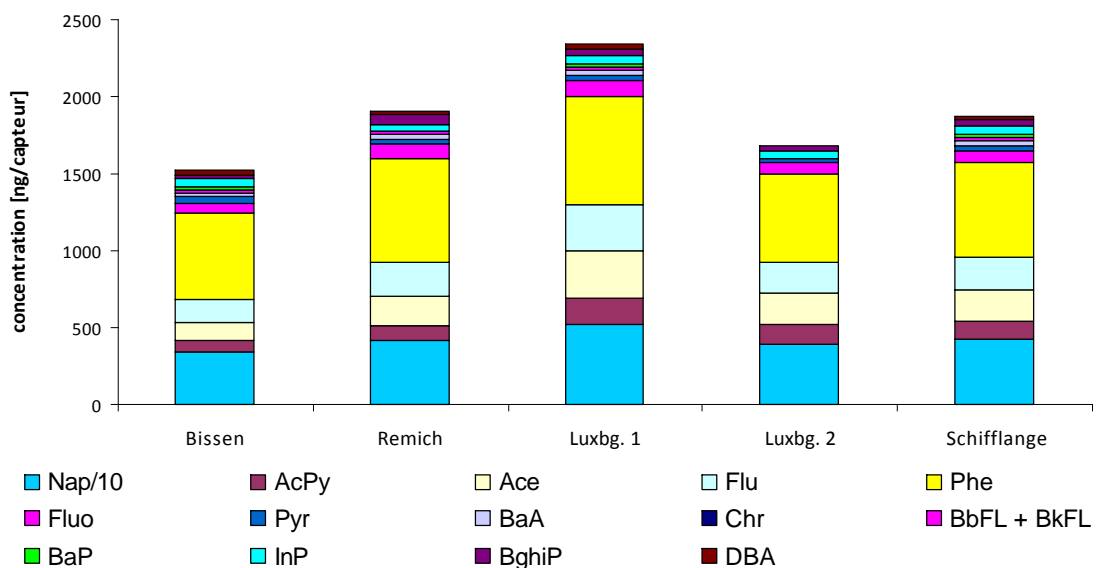
### II.1.2.3.1. Variations en fonction du site de prélèvement

Pour étudier les variations en fonction du site de prélèvement des concentrations d'HAPs, les moyennes annuelles de chaque HAP sur chaque site ont été calculées et comparées entre elles. Pour étudier si les différences observées sont statistiquement significatives, un test ANOVA (si la distribution des valeurs suivait une loi normale) ou un test de Kruskal-Wallis (dans le cas inverse) a été fait sur les moyennes calculées. La normalité des valeurs a été vérifiée avec le test de Shapiro-Wilk. Si  $P < 0,05$  la probabilité que le résultat soit dû au hasard est inférieure à 5 %, ce qui a été désigné comme un résultat « statistiquement significatif ». L'anthracène et le benzo(c)phénanthrène ont été exclus des calculs de comparaison des moyennes parce qu'ils n'ont jamais été détectés à des quantités  $> LQ$ . Les moyennes annuelles par site ainsi que la valeur P sont données dans le tableau II.5.

**Tableau II.5 :** Quantités annuelles moyennes par site et par composé en ng/capteur ( $\pm$  écart-type), et valeur P pour chaque composé. n.d. = non détecté

	Bissen	Remich	Luxembourg 1	Luxembourg 2	Schifflange	valeur P
Nap	3405 $\pm$ 2522	4118 $\pm$ 2580	5184 $\pm$ 2552	3945 $\pm$ 988	4276 $\pm$ 2067	0,249
AcPy	75,6 $\pm$ 51,7	101,9 $\pm$ 67,5	170,9 $\pm$ 229,3	131,1 $\pm$ 55,4	120,0 $\pm$ 86,2	<b>0,049</b>
Ace	120,6 $\pm$ 61,8	183,5 $\pm$ 63,2	308,2 $\pm$ 429,5	197,0 $\pm$ 132,0	198,3 $\pm$ 147,5	0,201
Flu	149,3 $\pm$ 101,0	228,1 $\pm$ 143,1	299,6 $\pm$ 322,0	198,1 $\pm$ 97,3	211,1 $\pm$ 150,1	0,296
Phe	555,2 $\pm$ 367,7	669,8 $\pm$ 295,6	703,9 $\pm$ 895,9	583,4 $\pm$ 165,3	614,7 $\pm$ 370,2	0,5
Fluo	65,4 $\pm$ 47,4	91,2 $\pm$ 38,0	100,9 $\pm$ 117,2	69,1 $\pm$ 25,6	77,6 $\pm$ 50,4	0,546
Pyr	40,6 $\pm$ 33,7	36,8 $\pm$ 21,6	37,2 $\pm$ 35,5	25,9 $\pm$ 9,1	34,0 $\pm$ 23,0	0,802
BaA	30,0 $\pm$ 1,4	29,5 $\pm$ 1,1	29,1 $\pm$ 0,9	n.d.	29,5 $\pm$ 1,2	0,719
Chr	n.d.	3,9 $\pm$ 2,8	1,21	n.d.	2,6 $\pm$ 3,0	0,845
BbFL + BkFL	16,3 $\pm$ 0,3	19,6 $\pm$ 8,8	17,5 $\pm$ 1,6	n.d.	17,8 $\pm$ 3,6	0,862
BaP	22,5 $\pm$ 4,2	n.d.	27,7	n.d.	25,1 $\pm$ 4,2	0,774
InP	46,9 $\pm$ 0,6	47,4 $\pm$ 1,3	50,8 $\pm$ 10,3	46,4 $\pm$ 0,3	47,6 $\pm$ 2,7	0,121
BghiP	30,7 $\pm$ 7,4	61,2 $\pm$ 62,9	40,6 $\pm$ 10,0	35,4 $\pm$ 0,4	41,0 $\pm$ 2,7	0,216
DBA	23,5 $\pm$ 0,6	23,9 $\pm$ 1,4	32,0 $\pm$ 12,4	n.d.	26,5 $\pm$ 4,8	0,855

Uniquement les concentrations atmosphériques de l'acénaphthylène ont été significativement différentes sur les cinq sites ( $P = 0,049$ ). Les concentrations ont été maximales au site de Luxembourg 1, un site urbain, et minimales au site de Bissen, un site rural. Il a donc été possible de mettre en évidence, avec les capteurs XAD-2, des variations en fonction du site de prélèvement pour au moins un HAP. Les différences entre les moyennes des concentrations des autres HAPs sur les cinq sites n'ont pas été statistiquement différentes. Pourtant, de faibles différences ont été observées en comparant les concentrations moyennes sur les différents sites. Ainsi, les quantités en naphthalène et AcPy ont été maximales au site Luxembourg 1 et minimales au site de Bissen. Pour approfondir ces observations et visualiser les variations en fonction des sites de prélèvement, les concentrations moyennes ont été représentées sous forme graphique (figure II.5).



**Figure II.5 :** Concentrations moyennes mesurées sur les cinq sites pour les différents HAPs. Les concentrations du naphthalène ont été divisées par 10 pour permettre une meilleure lisibilité de l'histogramme.

L'histogramme ci-dessus confirme que de faibles différences existent dans l'intensité des concentrations mesurées aux cinq sites, mais les composés détectés ont été les mêmes



et les rapports entre leurs concentrations ont été similaires. Le seul HAP pour qui des variations significatives ont été détectées a donc été le AcPy.

### II.1.2.3.2. Variations en fonction de la durée d'échantillonnage

Des variations des concentrations des HAPs en fonction du site d'échantillonnage n'ont donc pas été observées (à l'exception de l'AcPy), mais la durée d'exposition des capteurs n'a pas été identique sur tous les sites. Ainsi, les capteurs sur les sites de Bissen et Luxembourg 1 ont été exposés sur des durées variant entre 28 et 44 jours, alors que sur les trois autres sites, la période d'exposition s'est étendue jusqu'à 60 jours (Remich), 82 jours (Luxembourg 2) voire 87 jours (Schiffflange) (voir tableau II.1 page 50). Wania et al. (2003) ayant montré que les molécules s'accumulent sur les capteurs pendant une durée d'au moins 365 jours, la concentration en HAPs sur les capteurs exposés plus longtemps doit donc avoir été plus élevée. Ceci a été vérifié à l'aide de deux exemples de trois capteurs récupérés exactement le même jour, mais ayant été exposés pendant des durées différentes (tableau II.6).

**Tableau II.6 :** Comparaison des quantités totales en HAPs mesurées sur les capteurs en fonction de la durée d'exposition du capteur (D.E). ( $\Sigma_{\text{HAPs}}$  = somme de la quantité de tous les HAP mesurée sur le capteur, en ng)

	Date récup.	Site	$\Sigma_{\text{HAPs}}$	D.E. [jours]	Site	$\Sigma_{\text{HAPs}}$	D.E. [jours]	Site	$\Sigma_{\text{HAPs}}$	D.E. [jours]
<b>Exemple 1</b>	29/12/2008	Bissen	11653	30	Luxbg. 1	10314	30	Remich	11852	60
<b>Exemple 2</b>	26/06/2009	Bissen	3400	35	Luxbg. 1	2832	35	Luxbg.2	5443	81

Dans le premier exemple, trois capteurs ont été récupérés le 29 décembre 2008. Les quantités totales en HAPs mesurées sur les trois capteurs ont été presque identiques, ne variant que de 7,4 %, mais la durée d'exposition du capteur de Remich a été le double de celle des deux autres capteurs. Ceci peut avoir deux raisons :

1. Les HAPs ne s'accumulent pas sur le capteur mais établissent une sorte d'équilibre de partage entre le capteur et l'atmosphère. Ceci remettrait en question la théorie d'accumulation des composés de Wania et al. (2003), au moins pour les HAPs.

2. Le niveau de saturation du capteur a été atteint avec une adsorption de plus de 10 000 ng/capteur. Les concentrations mesurées sur les capteurs récupérés le 29 décembre ont effectivement été les plus importantes détectées pendant toute la campagne d'échantillonnage.

Dans le deuxième exemple, la durée d'exposition du capteur de Luxembourg 2 a été plus que 2,3 fois plus élevée que celle des capteurs exposés à Bissen et Luxembourg 1, et la quantité totale d'HAPs a été 1,6 fois plus élevée que celle de Bissen et 1,9 fois plus élevée que celle de Luxembourg 1. Dans ce cas une accumulation des HAPs sur les capteurs pourrait avoir eu lieu.

Ces deux exemples n'ont donc permis ni de confirmer, ni de démentir la théorie d'accumulation de composés organiques sur les capteurs, proposée par Wania et al. (2003). Pourtant, ils montrent que, au moins pour certains composés, la possibilité d'établissement d'un équilibre de partage entre le capteur et l'atmosphère ne peut pas être exclue.

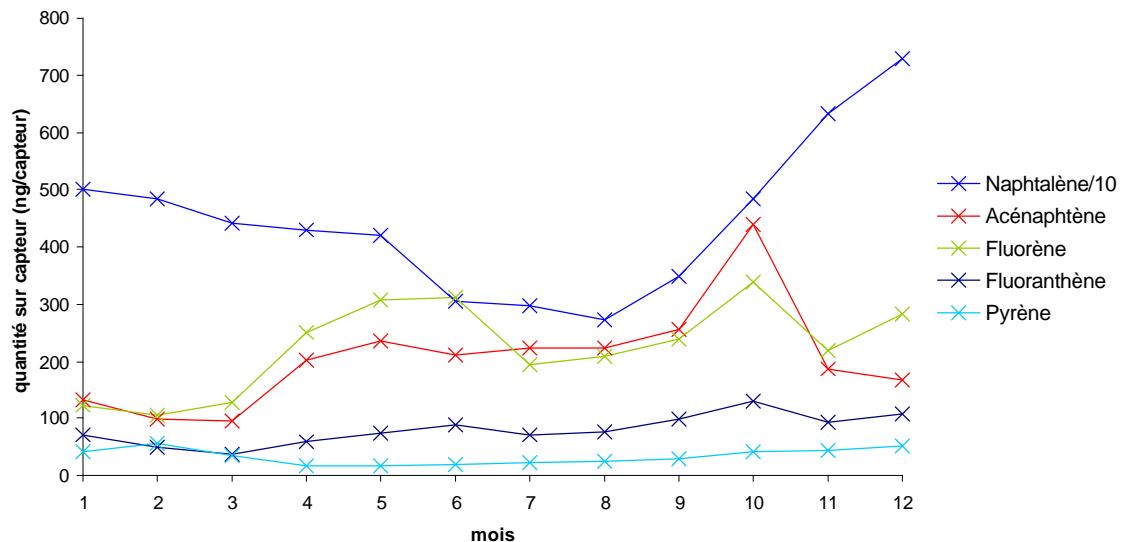
#### **II.1.2.3.3. Variations en fonction du temps**

Les variations en fonction du temps ont été étudiées en calculant les moyennes des concentrations d'HAPs par mois pour tous les sites confondus. Si sur un site, deux capteurs ont été exposés dans un mois, la moyenne mensuelle a été calculée en fonction de la durée d'exposition respective de chacun des deux capteurs. Ces moyennes mensuelles ont été comparées entre elles, et des tests de comparaison des moyennes ont été faits pour tous les composés. De nouveau, l'anthracène et le benzo(c)phénanthrène n'ont pas été inclus dans ces calculs de moyennes parce qu'ils n'ont jamais été détectés à des concentrations > LQ. Les moyennes des concentrations en HAPs par mois et les valeurs P des comparaisons des moyennes sont présentées dans le tableau II.7.

**Tableau II.7 :** Moyennes mensuelles des quantités d'HAPs sur les capteurs [ng/capteur] et valeurs P des comparaisons des moyennes

	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sep	Oct	Nov	Déc	valeur P
Nap	5012	4840	4410	4303	4190	3044	2966	2736	3490	4831	6348	7296	<b>0,002</b>
AcPy	112,6	83,7	86,9	125,1	132,8	129,4	93,0	89,7	114,8	243,9	133,4	190,2	0,388
Ace	132,4	97,4	95,9	200,8	236,5	211,2	223,8	224,5	254,0	438,5	187,4	166,8	<b>0,026</b>
Flu	122,9	105,6	127,5	249,3	307,7	312,2	193,1	209,6	239,2	338,4	218,2	281,6	<b>0,008</b>
Phe	583,8	458,2	391,7	495,3	655,8	800,6	600,4	644,3	754,3	997,1	667,6	661,9	0,103
Fluo	70,8	50,1	38,3	57,9	74,5	89,2	70,3	75,1	98,6	130,1	93,8	109,0	<b>0,028</b>
Pyr	42,4	56,0	34,2	17,7	16,4	19,5	21,7	23,8	29,8	40,8	45,1	51,3	<b>0,003</b>
BaA	-	19,5	14,4	15,2	-	4,1	19,7	12,1	26,6	-	29,4	28,2	0,218
Chr	-	-	4,3	3,2	-	1,6	-	-	-	-	-	1,1	0,312
BbFL + BkFL	-	19,6	7,1	-	0,54	10,9	12,0	-	2,0	14,3	-	-	0,227
BaP	-	-	-	-	4,8	13,3	18,6	7,8	17,2	-	-	-	0,420
InP	47,6	23,9	38,3	22,2	7,9	34,5	44,4	47,0	46,8	46,5	45,8	35,9	0,226
BghiP	38,2	57,1	17,3	17,3	30,0	28,5	35,7	35,5	33,6	33,7	33,9	28,6	0,624
DBA	-	17,2	11,8	12,3	23,8	5,7	21,5	14,5	3,2	22,9	22,2	21,5	0,678

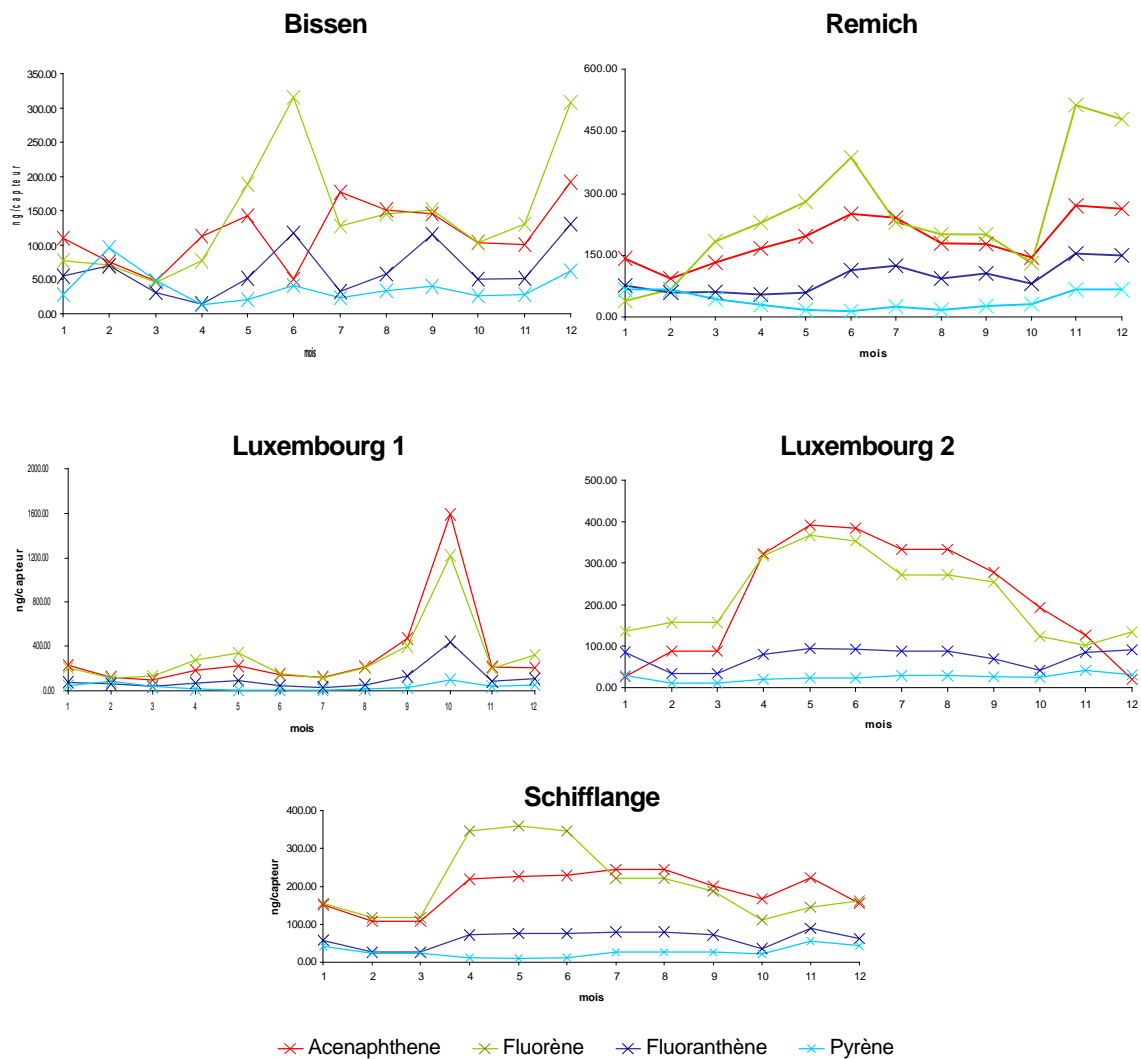
Des variations temporelles statistiquement significatives ont été observées pour cinq HAPs : le naphtalène, l'acénaphthène, le fluorène, le fluoranthène et le pyrène. Pourtant, les quantités de ces cinq HAPs adsorbées sur les capteurs n'ont pas évolué de la même façon (figure II.6).



**Figure II.6 :** Variations temporelles du naphtalène (quantité sur capteur divisée par 10), acénaphthène, fluorène, fluoranthène et pyrène.

Les concentrations du naphtalène ont augmenté d'août à décembre et ont ensuite diminué pendant tout le printemps et l'été. Une des sources principales des émissions du naphtalène étant le chauffage domestique (surtout le chauffage domestique au bois) (INERIS, 2005), ceci pourrait être une des raisons pour l'augmentation des concentrations atmosphériques en naphtalène en hiver. Pour l'acénaphthène et le fluorène, deux augmentations ont été observées sur l'année, une au début du printemps et une à la fin de l'automne. Le fluoranthène suit la même évolution sur l'année, mais les quantités mesurées sont plus faibles et les variations sont moins prononcées. De plus, un troisième maximum a été observé en décembre pour ce composé. Ces variations ont été comparées aux variations du trafic routier aux sites respectifs, mais, à part une légère diminution en été, l'intensité du trafic n'a pas significativement varié au cours de l'année (Administration des Ponts et Chaussées, Luxembourg; [www.pch.public.lu/trafic/comptage/comptage/chart\\_mensuel.jsp](http://www.pch.public.lu/trafic/comptage/comptage/chart_mensuel.jsp)). Il doit donc y avoir une autre raison pour les augmentations des quantités mesurées au

printemps et surtout en octobre. Le chauffage individuel ne semble pas être responsable non plus pour ces hausses, vu que les quantités sont minimales dans les périodes les plus froides de l'année (janvier à mars). Il a ainsi été décidé d'étudier les évolutions des concentrations de ces quatre HAPs en fonction du site de prélèvement (figure II.7).



**Figure II.7 :** Variations temporelles par site pour acénaphthène, fluorène, fluoranthène et pyrène.

Les variations des concentrations de ces quatre HAPs en fonction du temps n'ont pas été identiques sur les cinq sites. La forte augmentation des quantités d'acénaphthène, de

fluorène, de fluoranthène et de pyrène en octobre n'a été observée que sur le site Luxembourg 1. Pourtant, l'augmentation en printemps a été observée sur tous les sites, mais l'intensité en a varié d'un endroit à l'autre. A Bissen, elle a été plutôt faible et limitée au mois de mai, alors qu'elle a été très prononcée à Luxembourg 2 et à Schifflange et répartie sur plusieurs mois. Ceci semble confirmer que les concentrations atmosphériques en HAPs soient fortement corrélées aux émissions de sources locales, comme il a déjà été suggéré par Mastral et al. (2003) et Zhang et al. (2009) (voir § I.2.1.4. page 23). Il y a effectivement des différences dans l'occupation biophysique des sols aux différents sites en ce qui concerne l'activité industrielle, le trafic routier et le nombre d'habitants (voir figure II.1.a. et II.1.b pages 47 et 48), mais aucune explication n'a pu être trouvée pour l'évolution des quatre HAPs en question aux sites respectifs. Les différences observées dans l'évolution des concentrations atmosphériques en HAPs sur les sites étudiés indiquent également qu'il est plus intéressant d'étudier les HAPs individuellement, parce que leur comportement atmosphérique n'est pas toujours identique. Pourtant, ceci n'est pas respecté dans beaucoup d'études où les interprétations se basent uniquement sur la somme de tous les HAPs (Tasdemir et Esen, 2007 ; Kumar Prajapati et Tripathi, 2008).

#### **II.1.2.3.4. Variations en fonction de la température**

L'augmentation de la concentration du naphthalène en hiver et l'augmentation des concentrations de plusieurs HAPs comme l'acénaphthène et le fluorène en été suggèrent que les quantités d'HAPs déposées sur les capteurs puissent être corrélées avec la température. Pour étudier ceci, les quantités d'HAPs mesurées sur les capteurs ont été corrélées (a) avec la température moyenne sur la période où le capteur a été exposé (tableau II.8.a page 69), et (b) avec la température moyenne du jour où le capteur a été récupéré (tableau II.8.b page 69). Cette différenciation a été faite parce qu'il n'est pas connu à l'heure actuelle si l'adsorption des HAPs se fait par établissement d'équilibre entre l'air et le capteur ou par accumulation (voir § II.1.2.3.2. page 63). Si l'adsorption des HAPs est corrélée à la température et si la théorie sur l'établissement d'un équilibre entre le capteur et l'air est vraie, la température du dernier jour devrait avoir plus d'influences sur le résultat que la température moyenne sur toute la période de l'exposition. Par contre, si l'hypothèse sur

l'accumulation des HAPs sur le capteur est vraie, la température moyenne sur toute la période d'exposition devrait avoir plus d'influences comme le résultat ne serait pas influencé particulièrement par la température du dernier jour.

**Tableau II.8.a :** Valeurs P des corrélations entre la quantité d'HAPs sur le capteur et la température moyenne sur toute la période d'échantillonnage et valeurs R si P < 0,05

	<b>Bissen</b>	<b>Remich</b>	<b>Luxembourg 1</b>	<b>Luxembourg 2</b>	<b>Schifflange</b>
Nap	<b>0,024 (-0,76)</b>	0,165	0,065	0,432	0,163
AcPy	0,642	0,172	0,644	0,280	0,968
Ace	0,654	0,200	0,931	<b>0,002 (0,75)</b>	0,135
Flu	0,684	0,462	0,877	0,055	0,210
Phe	0,630	0,902	0,884	0,072	0,842
Fluo	0,606	0,573	0,681	0,770	0,420
Pyr	0,240	<b>&lt;0,001 (-0,91)</b>	<b>0,030 (-0,65)</b>	0,907	0,213
BaA	-	-	0,055	-	-
Chr	-	-	-	-	-
BbFL + BkFL	-	0,236	-	-	-
BaP	0,293	-	-	-	-
InP	<b>0,020 (0,88)</b>	0,871	0,282	0,426	0,700
BghiP	0,394	0,355	0,338	0,563	0,895
DBA	0,105	-	-	-	-

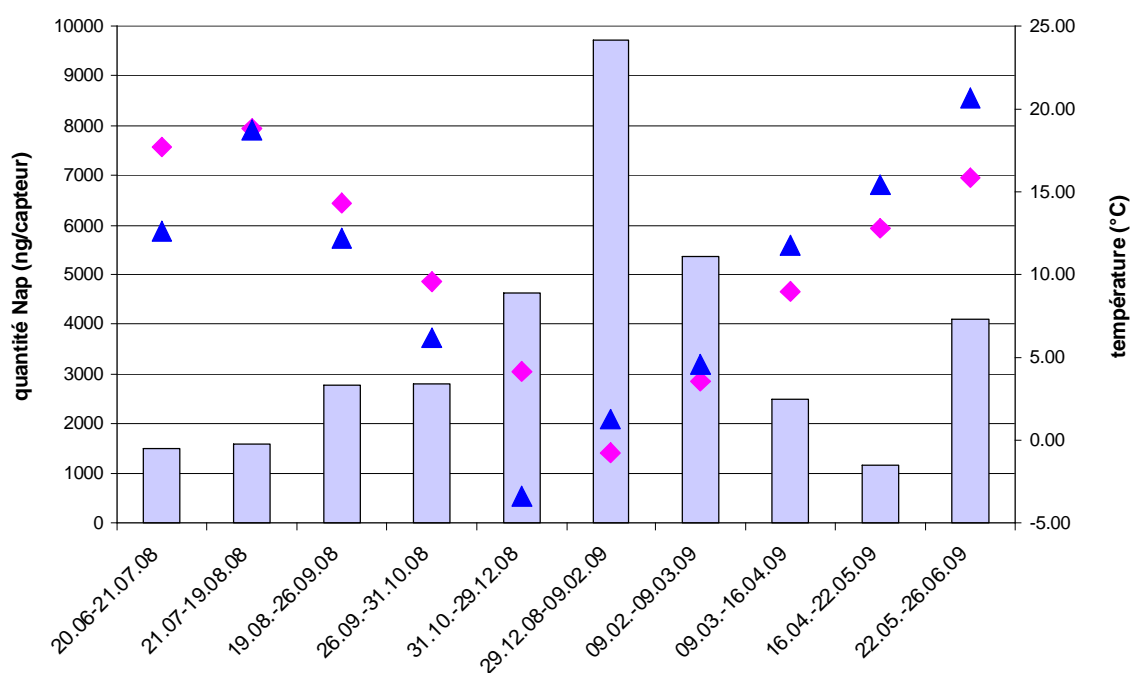
**Tableau II.8.b :** Valeurs P des corrélations entre la quantité d'HAPs sur le capteur et la température moyenne au jour de récupération du capteur et valeurs R si P < 0,05

	<b>Bissen</b>	<b>Remich</b>	<b>Luxembourg 1</b>	<b>Luxembourg 2</b>	<b>Schifflange</b>
Nap	<b>0,007 (-9,67)</b>	<b>0,008 (-0,77)</b>	<b>0,013 (-0,71)</b>	0,581	0,975
AcPy	0,2	<b>0,041 (-0,65)</b>	0,364	<b>0,018 (0,83)</b>	0,566
Ace	0,623	0,654	0,639	<b>0,024 (0,81)</b>	0,629
Flu	0,809	0,849	0,604	<b>0,014 (0,85)</b>	0,142
Phe	0,603	0,377	0,929	<b>0,034 (0,79)</b>	0,986
Fluo	0,526	0,608	0,423	0,973	0,856
Pyr	0,291	<b>&lt;0,001 (-0,92)</b>	<b>0,025 (-0,66)</b>	0,189	<b>0,022 (-0,82)</b>
BaA	-	-	0,527	-	-
Chr	-	-	-	-	-
BbFL + BkFL	-	0,364	-	-	-
BaP	0,357	-	-	-	-
InP	<b>0,011 (0,91)</b>	0,545	0,52	<b>0,042 (0,83)</b>	0,211
BghiP	0,306	0,598	0,569	0,567	0,096
DBA	0,471	-	-	-	-

Des relations statistiquement significatives entre la température et les quantités d'HAPs sur les capteurs ont pu être mises en évidence pour certains composés. Le nombre de telles

corrélations est plus élevé si on prend en compte uniquement la température moyenne du jour de récupération du capteur (13 contre 5 pour la température moyenne sur toute la période d'exposition). Ceci confirme donc plutôt l'hypothèse de l'établissement d'un équilibre de partage entre le capteur et l'air. Pourtant, les connaissances sur les mécanismes d'adsorption doivent encore être approfondies avant de pouvoir conclure définitivement sur cette question.

En analysant les tableaux II.8.a et II.8.b ci-dessus, il peut également être observé que les coefficients de corrélation d'une grande partie des HAPs sont négatifs. Ceci indique que les quantités déposées sur le capteur augmentent si la température diminue, comme illustré ci-dessous pour l'exemple du naphtalène (figure II.8).



**Figure II.8 :** Variations des quantités de naphtalène sur les capteurs sur le site de Remich, superposées aux températures moyennes pour la période respective (losange rose) et aux températures moyennes du jour de récupération du capteur (triangle bleu)

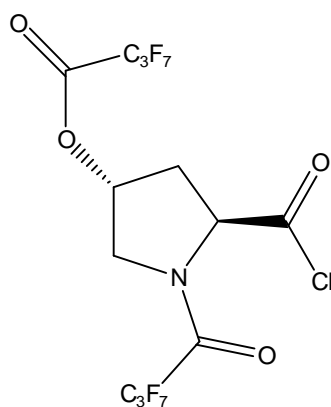
Le fait que l'adsorption des HAPs sur les capteurs soit inversement liée à la température a déjà été observé par Klánová et al. (2008) ayant utilisé des capteurs passifs à disque en mousse de polyuréthane. Ils ont constaté que les températures froides augmentent les taux



de dépositions sur les capteurs et ont formulé l'hypothèse que cette plus forte adsorption soit due au fait que le vent est généralement plus fort les jours où il fait plus froid, ce qui augmenterait les quantités d'analytes apportées au capteur. Comme le vent à proximité des capteurs n'a pas été mesuré dans la présente étude, ceci ne peut pas être confirmé. Curieusement, sur le site de Luxembourg 2, uniquement des corrélations positives ont été observées. Sur ce site, les HAPs s'adsorbent donc davantage sur les capteurs quand la température est élevée. Pourtant, il faut se rappeler que le capteur à Luxembourg 2 a été fixé sur le rebord d'une fenêtre d'un immeuble, donc un peu à l'abri du vent. S'il est vrai que les températures froides augmentent la vitesse du vent et ainsi le taux d'analytes apportés au capteur, il se pourrait que cette augmentation ne se soit pas manifestée sur ce site vu l'emplacement du capteur à l'abri du vent. Pourtant, il est également possible que d'autres facteurs non-identifiés aient des influences sur l'adsorption des HAPs sur les capteurs.

### II.1.3. Détermination des OH-HAPs sur les capteurs

Les chromatogrammes d'extraits atmosphériques présentent généralement un bruit de fond très important suite à des échantillonnages moyennement spécifiques prélevant en plus beaucoup de contaminants atmosphériques non recherchés. Ce bruit de fond ne peut pas être complètement éliminé par des purifications de l'échantillon avant analyse et diminue la sensibilité de la méthode. Pourtant, le bruit de fond diminue avec l'augmentation du rapport  $m/z$  (masse sur charge) des fragments isolés dans l'analyse en SM, et vu que l'utilisation de la CPG-SM/ICN (ionisation chimique négative) donne des fragmentations plus douces que l'impact électronique (Martins Ferreira et al., 2006 ; Appenzeller et al., 2007b), elle permet de conserver les ions moléculaires, d'analyser des fragments plus lourds et de réduire ainsi le bruit de fond. Un petit désavantage de ce mode d'analyse est quand même que la majorité des composés doivent être dérivés avec des réactifs halogénés avant analyse pour augmenter la densité électronique des composés et pour être détectables en ICN. Dans cette optique, différents réactifs ont été testés pour dériver les OH-HAPs : l'anhydride trifluoroacétique (TFAA), l'anhydride pentafluoropropionique (PFPA) et le chlorure de (2S,4R)-N-heptafluorobutyryl-4-heptafluorobutoxyloxy-prolyle [(S,R)-HFBOPCI] (figure II.9 page 73) qui a été synthétisé antérieurement dans notre laboratoire pour l'analyse d'amphétamines (Martins et al., 2005 ; Martins Ferreira, 2007). Ce dernier réactif a été testé parce qu'il a l'avantage de produire des dérivés de très grand poids moléculaire. En utilisant une fragmentation douce en spectrométrie de masse (p.ex. l'ICN), on peut scanner sur des fragments lourds, ce qui permet de réduire considérablement le bruit de fond sur les chromatogrammes.



**Figure II.9 :** Structure développée du (S,R)-HFBOPCl

Aucun signal n'a été obtenu quand les OH-HAPs ont été dérivés au TFAA et au PFPA. Uniquement le (S,R)-HFBOPCl a permis d'avoir des signaux exploitables avec des masses (m/z) correspondant au fragment du réactif de dérivation (506, 487) et des masses propres au OH-HAP respectif.

### II.1.3.1. Instrumentation

La séparation chromatographique des OH-HAPs dérivés au (S,R)-HFBOPCl a été faite avec un chromatographe d'Agilent (7890 A) équipé d'un échantillonneur automatique (CTC CombiPal) et d'une colonne capillaire HP-5MS (5 % méthyl – 95 % phénylsiloxane ; 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m). Les températures de la chambre d'injection et de la ligne de transfert ont été fixées à 260 °C et à 280 °C respectivement, et le gaz vecteur a été l'hélium avec un flux de 1,8 mL/min. Le volume injecté a été de 3  $\mu$ L et l'injection a été faite en mode « splitless » pulsé. Une séparation optimale a été obtenue avec le programme de température suivant : température initiale de 100 °C, après 2 minutes augmentation à 40 °C/min. jusqu'à 235 °C, augmentation à 10 °C/min. jusqu'à 280 °C, pallier de température de 3 minutes, augmentation à 10 °C jusqu'à 300 °C. La température finale a été gardée pendant 20,1 minutes.

L'analyse SM a été faite avec un spectromètre de masse d'Agilent (5975C) opéré en mode ionisation chimique négative en utilisant le méthane comme gaz réactif d'ionisation,

avec un flux de 40 %. Les fragments caractéristiques de chaque composé ont été déterminés en mode full scan et deux ou quatre fragments (en fonction de la séparation chromatique des molécules) ont été sélectionnés pour chaque composé : un fragment pour la quantification et un ou trois fragments pour la confirmation (tableau II.9).

**Tableau II.9 :** Paramètres analytiques de la méthode CPG-SM de l'analyse des OH-HAPs dérivés

composé	masse moléculaire (g/mol)	masse moléculaire après dérivatisation (g/mol)	masse de quantification (m/z)	masses de confirmation (m/z)
1-hydroxynaphtalène	144	650	629	649, 506, 487
2-hydroxynaphtalène	144	650	649	629, 506, 487
2-hydroxyfluorène	182	688	667	667
9-hydroxyfluorène	182	688	687	687, 506, 487
1-hydroxyphénanthrène	194	700	699	679, 506, 487
2-hydroxyphénanthrène	194	700	699	679, 506, 487
3-hydroxyphénanthrène	194	700	699	679, 506, 487
4-hydroxyphénanthrène	194	700	699	679
9-hydroxyphénanthrène	194	700	699	679, 506, 487
1-hydroxypyrrène	218	724	723	703
1-hydroxypyrrène-D <sub>9</sub>	227	733	732	712
2-hydroxybenzo(c)phénanthrène	244	750	749	729, 506, 487
6-hydroxychrysène	244	750	749	729, 506, 487

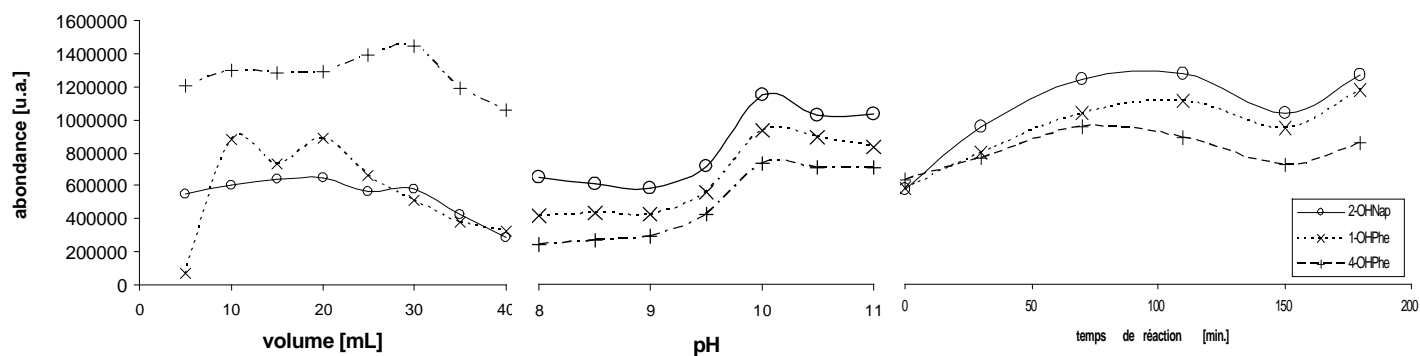
### II.1.3.2. Dérivation des OH-HAPs

Pour optimiser les conditions de dérivatisation des OH-HAPs étudiés et obtenir des réponses analytiques maximales, les paramètres influençant la dérivatisation (temps de réaction, pH, quantité de réactif ajoutée) ont été investigués.

#### II.1.3.2.1. Influence de la quantité de (S,R)-HFBOPCI

L'influence de la quantité de réactif sur les réponses analytiques des OH-HAPs a été évaluée en ajoutant différents volumes (5 – 40 µL, intervalles de 5 µL) d'une solution de 0,2 M de (S,R)-HFBOPCI à une solution contenant 1 nmol/L de chaque OH-HAP. La dérivatisation a été réalisée en milieu basique dans une solution à 5 % de carbonate (NaHCO<sub>3</sub> (70 g/L) –

$\text{Na}_2\text{CO}_3$  (30 g/L) à pH 9,5 (Martins Ferreira et al., 2006). La réaction d'acylation a été arrêtée systématiquement au bout de 15 minutes par l'ajout de 100  $\mu\text{L}$  de cyclohexane suivi d'une extraction liquide-liquide des dérivés en phase organique. Les résultats sont représentés sur la figure II.10 pour le cas du 2-OHNap, 1-OHPhe et 4-OHPhe.



**Figure II.10 :** Etude des influences du volume de réactif ajouté, du pH du tampon et du temps de réaction sur le rendement de la réaction de dérivation du 2-OHNap, 1-OHPhe et 4-OHPhe avec le (S,R)-HFBOPCl

La figure II.10 montre que la réaction d'acylation des OH-HAPs n'évolue pas de la même façon pour tous les composés. Ces variations peuvent être dues à des différences dans l'accessibilité de la fonction hydroxyle par le (S,R)-HFBOPCl. La réponse analytique a été relativement stable pour tous les composés si l'ajout de réactif a été compris entre 10  $\mu\text{L}$  et 20  $\mu\text{L}$ . Après avoir dépassé les 20  $\mu\text{L}$ , elle a diminué pour la plupart des composés. Il a ainsi été décidé d'utiliser un volume de réactif de 20  $\mu\text{L}$ .

#### II.1.3.2.2. Influence du pH du milieu réactionnel

La dérivation des OH-HAPs s'effectue dans une solution aqueuse basique. Le rôle de la base est de déprotoner la fonction hydroxyle des OH-HAPs pour favoriser l'attaque nucléophile des OH-HAPs à la fonction carbonyle du (S,R)-HFBOPCl. La déprotonation se fait si le pKa de la molécule est égal au pH de la solution dans laquelle se trouvent les molécules. Pour les molécules où les valeurs ont été trouvées dans la littérature scientifique, les pKa se

situent entre 9 et 10. Ainsi, l'influence du pH sur le rendement de la réaction a été étudiée en variant le pH entre 8 et 11 à des intervalles de 0,5 (figure II.10 page 75).

L'évolution des réponses analytiques a été pareille pour tous les douze métabolites étudiés. Elle est restée stable entre pH = 8 et pH = 9 et a ensuite commencé à monter, le maximum ayant été constaté à un pH de 10,0. Puis, la réponse a de nouveau légèrement diminué pour quelques composés. Ainsi, il a été décidé d'effectuer la dérivation dans un tampon carbonate à pH = 10,0.

### **II.1.3.2.3. Influence du temps de réaction**

Etant donné que la réaction de dérivation n'est pas instantanée, l'influence du temps de réaction a également été évaluée. La réaction a été arrêtée par l'ajout de cyclohexane à des intervalles de 10 minutes dans un cycle allant de 0 à 180 minutes. Les résultats sont présentés dans la figure II.10 page 75.

L'évolution de la réponse analytique a été très comparable pour tous les métabolites. Une grande partie des OH-HAPs a été dérivée immédiatement lors de l'ajout des 20 µL de (S,R)-HFBOPCl 0,2 M. Un rendement maximal a été obtenu après un temps de réaction compris entre 70 et 100 minutes. Globalement il a été constaté que, plus le métabolite est lourd, plus la réaction est rapide. Ceci est probablement dû à l'effet inductif positif favorisant l'attaque nucléophile de la fonction hydroxyle déprotonée, qui augmente avec le nombre de cycles aromatiques de l'OH-HAP.

Après l'atteinte de ce maximum, la réponse analytique a diminué jusqu'à un temps de réaction de 150 minutes pour remonter par après. Cette diminution a déjà été observée par Lim et al. (1986) qui ont dérivé des amphétamines avec le (S)-HFBOPCl, un réactif comparable au (S,R)-HFBOPCl. Ils avaient conclu que les molécules dérivées ne sont pas très stables en milieu aqueux basique et qu'ils s'hydrolysent au bout d'un certain temps. Pourtant, ceci n'explique pas l'augmentation observée à la fin. Il se pourrait quand même que les molécules hydrolysées se re-dérivent avec le réactif en excès.

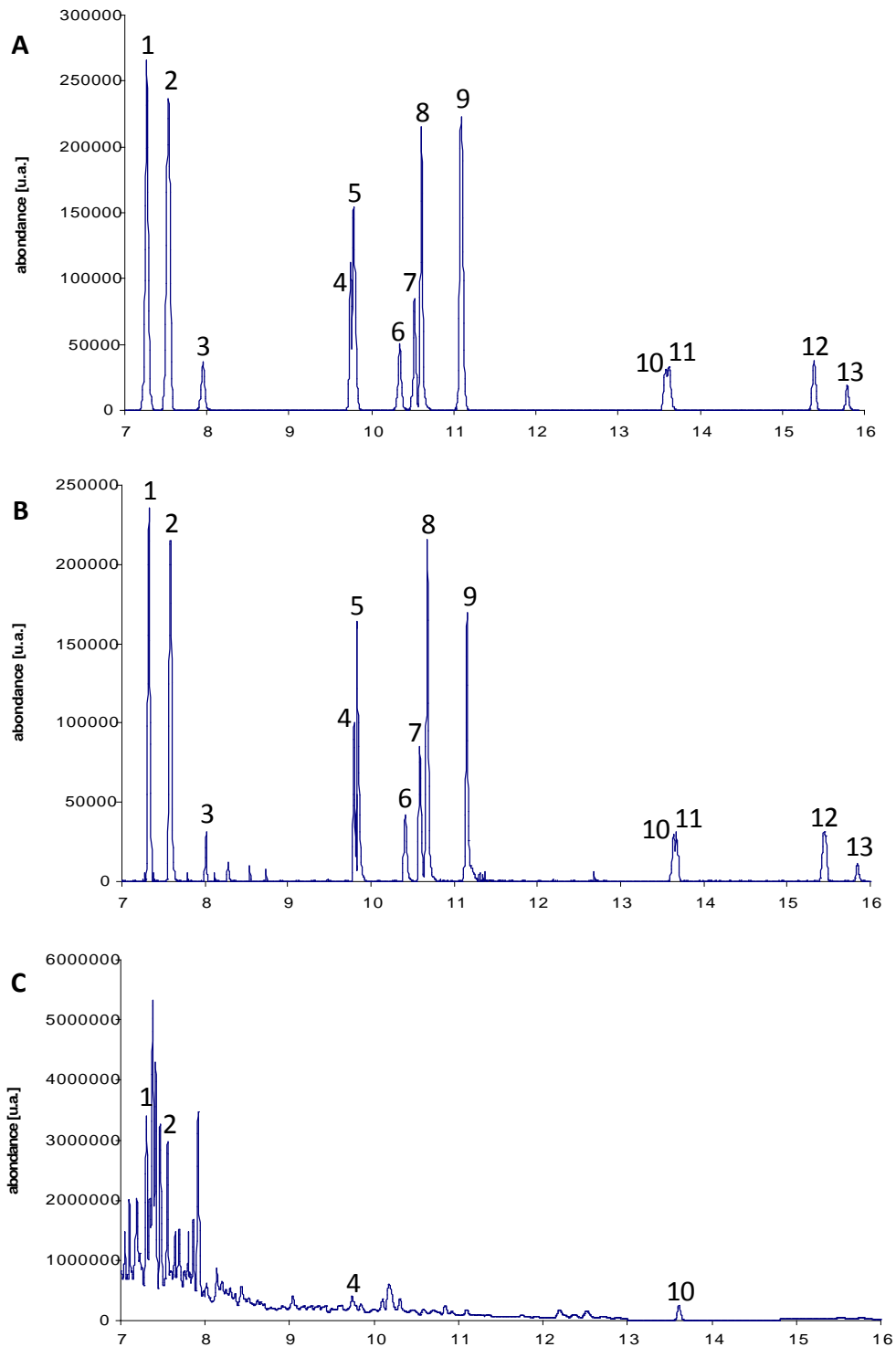
La réponse maximale n'étant pas atteinte au même instant pour toutes les molécules, il fallait chercher un compromis pour définir le temps de réaction. Le temps de réaction a ainsi été fixé à 70 minutes.

Vu la possibilité d'une hydrolyse des OH-HAPs en milieu aqueux, il a fallu vérifier la stabilité de ces molécules dans le cyclohexane, solvant d'extraction et d'analyse par CPG-SM/ICN. Ceci a été fait en préparant six échantillons à 0,1 nmol/L pour tous les composés. Ces échantillons ont été injectés cinq jours de suite. Trois échantillons ont été stockés au congélateur à -20 °C et trois échantillons ont été laissés sur le passeur du CPG à température ambiante. Les réponses analytiques ont varié de 10,6 % si les échantillons ont été stockés à -20 °C et de 12,5 % si les échantillons ont été stockés à température ambiante. Les dérivés obtenus sont donc assez stables s'ils sont conservés dans du cyclohexane.

#### **II.1.3.2.4. Conditions optimales de dérivation des OH-HAPs**

En se basant sur les résultats ci-dessus, les paramètres expérimentaux suivants ont été retenus pour la dérivation des OH-HAPs par le (S,R)-HFBOPCI : 20 µL de réactif à 0,2 M dans 0,2 ml d'un tampon carbonate à pH 10,0 et un temps de réaction de 70 minutes.

L'utilisation du (S,R)-HFBOPCI pour la dérivation de molécules avant leur analyse en CPG-SM/ICN n'est pas nouvelle. Ceci a déjà été fait avant par Martins Ferreira et al. (2006) pour l'analyse d'amphétamines, mais le présent travail présente le premier usage de ce réactif pour la dérivation d'OH-HAPs. Ce réactif présente l'énorme avantage de produire des dérivés de très grand poids moléculaire (entre  $m/z = 650$  et  $m/z = 750$  pour les OH-HAPs analysés dans cette étude, voir tableau II.9 page 74). Vu la fragmentation douce en ICN, le SIM en SM peut être fait sur des fragments de masse très élevée, ce qui donne des chromatogrammes montrant très peu de bruits de fond (figure II.11 page 78).



**Figure II. 11 :** Chromatogrammes obtenus après l'analyse d'une solution standard contenant tous les OH-HAPs analysés à 50 ng/capteur (A), d'un extrait d'un capteur dopé avec 50 ng des standards des 12 OH-HAPs analysés (B), et d'un extrait d'un capteur exposé non-dopé (capteur exposé à Schiffange du 31 octobre au 28 novembre 2008) (C). 1 = 1-OHNap ; 2 = 2-OHNap ; 3 = 9-OHFlu ; 4 = 2-OHFlu ; 5 = 4-OHPhe ; 6 = 9-OHPhe ; 7 = 1-OHPhe ; 8 = 3-OHPhe ; 9 = 2-OHPhe ; 10 = 1-OHPyr-D<sub>9</sub> ; 11 = 1-OHPyr ; 12 = 2-OHBcP ; 13 = 6-OHChr



### **II.1.3.3. Validation de la méthode d'analyse**

Pour tous les essais de calibration et de validation, des capteurs blancs ont été dopés avec des standards des douze OH-HAPs. Ces capteurs ont ensuite été extraits et analysés comme décrit ci-dessus. La calibration a été faite pour 0, 1, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 et 1000 ng/capteur. Les extraits ont ensuite été dopés avec 50 ng de 1-OHPyr-D<sub>9</sub> pour faire un étalonnage interne.

Les limites de détection (LD) ont été fixées comme étant la concentration la plus basse où tous les fragments retenus pour un composé ont pu être observés, et les limites de quantification (LQ) comme étant dix fois le rapport signal/bruit. Les variations intra- et inter-jour ainsi que les rendements d'extraction ont été déterminés en dopant des capteurs avec 50, 100 et 500 ng des deux OH-Nap et 10, 50 et 100 ng des autres OH-HAPs. Les paramètres de validation sont donnés dans le tableau II.10.

**Tableau II.10 :** Paramètres de validation de l'analyse des OH-HAPs sur les capteurs passifs. A, B et C représentent les quantités d'HAP déposées sur le capteur : A = 50 ng/capteur pour les OH-Nap et 10 ng/capteur pour les autres OH-HAPs, B = 100 ng/capteur pour les OH-Nap et 50 ng/capteur pour les autres OH-HAPs et C = 500 ng/capteur pour OH-Nap et 100 ng/capteur pour les autres OH-HAPs.  $t_r$  = temps de rétention ;  $R^2$  = coefficient de corrélation ; CV = coefficient de variation. Pour le 1-OHNap, le 2-OHNap, le 9-OHFlu et le 6-OHChr, les limites de quantification étaient > 10 ng/capteur, raison pourquoi ce point n'a pas été considéré dans les calculs des CV et rendements d'extraction pour ces composés.

composé	$t_r$ [min.]	$R^2$	CV intra-jour			CV inter-jour			LD [ng/capteur]	LQ	rendement d'extraction		
			A	B	C	A	B	C			A	B	C
1-OHNap	7,33	0,995	-	15,8 %	11,6 %	-	11,4 %	11,1 %	10	23	-	26,0 %	45,4 %
2-OHNap	7,58	0,993	-	1,6 %	13,9 %	-	14,8 %	3,8 %	10	25	-	55,5 %	50,2 %
2-OHFlu	8,01	0,992	14,5 %	8,0 %	4,2 %	22,7 %	10,9 %	9,7 %	5	15	50,1 %	31,7 %	54,7 %
9-OHFlu	9,79	0,985	-	14,4 %	5,5 %	-	12,8 %	9,4 %	10	50	-	23,2 %	39,5 %
1-OHPhe	9,81	0,989	12,8 %	1,5 %	13,1 %	23,6 %	7,7 %	10,0 %	5	40	34,1 %	25,1 %	63,2 %
2-OHPhe	10,40	0,992	17,8 %	7,8 %	11,1 %	19,3 %	2,6 %	4,5 %	5	11	26,8 %	25,6 %	44,7 %
3-OHPhe	10,58	0,990	15,1 %	5,3 %	5,8 %	19,5 %	4,7 %	10,3 %	5	10	40,8 %	99,4 %	92,1 %
4-OHPhe	10,67	0,986	9,1 %	11,6 %	13,0 %	15,0 %	8,0 %	7,8 %	5	10	51,0 %	55,2 %	74,3 %
9-OHPhe	11,15	0,992	16,2 %	11,5 %	8,4 %	22,9 %	8,1 %	7,3 %	5	15	26,2 %	70,9 %	50,9 %
1-OHPyr	13,67	0,998	16,5 %	8,1 %	6,4 %	10,0 %	7,9 %	6,2 %	5	15	48,4 %	58,6 %	63,1 %
2-OHBcP	15,45	0,994	15,5 %	9,8 %	8,3 %	10,8 %	6,9 %	9,8 %	1	10	34,2 %	18,6 %	22,0 %
6-OHChr	15,84	0,987	-	11,7 %	9,7 %	-	4,1 %	10,3 %	10	25	-	13,8 %	47,5 %

Les coefficients de corrélation sont tous supérieurs à 0,98 montrant la linéarité des droites de calibration pour tous les composés sur tout le domaine de calibration.

Les coefficients de variation intra- et inter-jours ont varié entre 1,5 (1-OHPhe) et 16,5 % (1-OHPyr) et entre 2,6 (2-OHPhe) et 23,6 % (1-OHPhe) respectivement, et les rendements d'extraction entre 13,8 (6-OHChr) et 92,1 % (3-OHPhe). Certains CVs ont donc été relativement élevés et quelques rendements d'extraction ont été relativement faibles. Ceci peut s'expliquer par le fait que le protocole d'extraction des capteurs n'a pas été optimisé pour l'extraction des OH-HAPs, vu que le but primaire de cette étude d'ABM a été d'analyser la contamination atmosphérique en HAPs et en pesticides. Les analyses d'OH-HAPs dans l'air n'ont été faites que dans l'objectif d'évaluer la concentration atmosphérique des OH-HAPs afin de pouvoir estimer le risque de contamination externe des cheveux. Les valeurs relativement élevées des CVs et les faibles rendements d'extraction suggèrent que les OH-HAPs, molécules très polaires, s'adsorbent très fortement sur la résine des capteurs et que le protocole d'extraction à l'acétonitrile n'extrait pas la totalité des OH-HAPs des capteurs. Il est peu probable que les faibles rendements soient dus à des pertes lors de la concentration des extraits à l'évaporateur rotatif, puisque les HAPs mères, plus volatils que leurs métabolites monohydroxylés, ont présenté des rendements d'extraction bien plus élevés (43,1 – 113,9 % ; voir tableau II.3 page 57).

Les paramètres de validation obtenus avec la méthode d'analyse développée ici pourraient certainement être optimisés en adaptant le protocole d'extraction. Pourtant, la méthode est assez fiable et sensible pour permettre d'évaluer la contamination de l'atmosphère en OH-HAPs et le risque éventuel de contamination externe des cheveux.

#### **II.1.3.4. Dosage des OH-HAPs dans les extraits des capteurs**

Uniquement trois OH-HAPs ont été détectés dans les extraits des capteurs analysés : le 1-OHNap, le 2-OHNap et le 2-OHFlu. Les concentrations des autres métabolites ont été inférieures à la limite de détection. Les concentrations mesurées pour les susdits trois métabolites sont données dans le tableau II.11.

**Tableau II.11 :** Concentrations des trois OH-HAPs détectés sur les capteurs (en ng/capteur) et fréquences de détection (F.D.) aux différents sites

	1-OHNap	2-OHNap	2-OHFlu
Bissen	< LQ - 412,3	< LQ - 323,5	< LQ
F.D.	100 %	100 %	18,2 %
Remich	< LQ - 364,1	< LQ - 221,2	< LQ
F.D.	100 %	100 %	30 %
Luxembourg 1	< LQ - 715,1	< LQ - 308,1	< LQ - 59,9
F.D.	100 %	100 %	36,3 %
Luxembourg 2	< LQ - 157,7	< LQ - 463,9	< LQ - 49,2
F.D.	100 %	100 %	42,8 %
Schifflange	< LQ - 225,5	< LQ - 319,5	< LQ - 16,3
F.D.	100 %	100 %	57,1 %

Les concentrations des hydroxynaphtalènes ont varié entre < LQ et 715 ng/capteur et celles du 2-OHFlu entre < LQ et 59,9 ng/capteur. Ces métabolites sont ainsi d'un facteur 10 moins concentrés que leurs molécules mères dont les concentrations sont montées jusqu'à 9727 ng/capteur (naphtalène) respectivement 1222 ng/capteur (fluorène ; voir tableau II.4 page 59). Le rapport OH-HAPs/HAPs dans cette étude est ainsi inférieur à celui déterminé en Chine par Wang et al. (2007), où les OH-HAPs ont été d'un facteur 1 à 3 moins concentrés que les HAPs. Pourtant, ils n'ont pas analysé les métabolites du naphtalène.

Au moins trois des douze OH-HAPs recherchés sont donc présents dans l'atmosphère et présentent un risque potentiel de contamination externe pour les analyses de cheveux. Ce risque est quand même beaucoup plus petit pour les OH-HAPs que pour les HAPs. Néanmoins, une étape de décontamination des cheveux pourrait être nécessaire pour enlever des dépôts éventuels de 1-OHNap, 2-OHNap et 2-OHFlu.

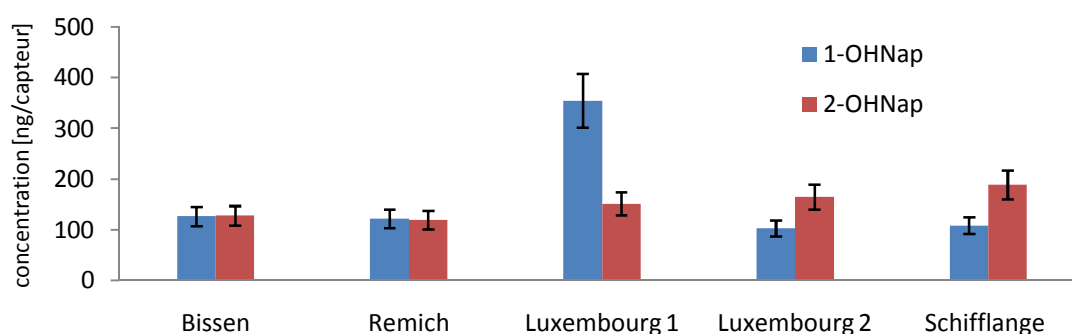
#### II.1.3.4.1. Variations en fonction du site de prélèvement

Les variations des concentrations des trois métabolites détectés en fonction du site de prélèvement ont été étudiées en comparant les moyennes de chaque composé sur les cinq sites (tableau II.12).

**Tableau II.12 :** Quantités moyennes annuelles par site et par composé détecté ( $\pm$  écart-type), et valeurs P des comparaisons des moyennes

	1-OHNap	2-OHNap	2-OHFlu
Bissen	127,2 $\pm$ 144,3	128,4 $\pm$ 87,7	< LQ
Remich	122,1 $\pm$ 142,1	119,8 $\pm$ 73,1	< LQ
Luxembourg 1	355,4 $\pm$ 255,1	152,1 $\pm$ 106,2	59,9
Luxembourg 2	103,7 $\pm$ 57,4	165,6 $\pm$ 158,7	49,2
Schifflange	109,1 $\pm$ 99,6	189,6 $\pm$ 114,0	16,3
valeur P	0,284	0,823	1,000

Les différences observées dans les quantités moyennes annuelles entre les cinq sites ne sont pas suffisamment grandes pour pouvoir exclure la possibilité qu'elles soient dues à un échantillonnage au hasard. Un facteur qui joue un rôle important dans ce genre de calculs statistiques est le nombre de valeurs disponibles pour chaque site. Ce nombre a été très faible dans le cas présent car, même si les deux hydroxynaphtalènes ont été détectés sur tous les capteurs sur les cinq sites, uniquement 4 (1-OHNap) respectivement 6 (2-OHNap) mesures ont dépassé la limite de quantification. Ceci a été davantage le cas pour le 2-OHFlu qui n'a jamais été détecté à des concentrations  $>$  LQ sur les sites de Bissen et Remich, et uniquement une fois sur les trois autres sites. Pour cette raison, il a été décidé de représenter les résultats obtenus pour les métabolites du naphtalène sous forme graphique (figure II.12).



**Figure II.12 :** Histogramme montrant les quantités moyennes annuelles en 1-OHNap et 2-OHNap sur les cinq sites

Il peut être observé que les quantités moyennes annuelles ne diffèrent pas beaucoup entre les cinq sites, à part pour la concentration de 1-OHNap mesurée à Luxembourg 1. Les

concentrations des deux OHNaps ont été égales sur les sites de Bissen et Remich. Sur les sites de Luxembourg 2 et Schifflange, la concentration du 2-OHNap a été légèrement plus élevée pendant qu'au site de Luxembourg 1, c'était le 1-OHNap qui a été deux fois plus concentré que le 2-OHNap.

La seule différence notable entre les cinq sites a été la concentration en 1-OHNap mesurée sur le site de Luxembourg 1 qui est particulièrement contaminé en 1-OHNap. Vu que les sources émettrices des OH-HAPs dans l'atmosphère ne sont pas très bien connues, il est difficile de proposer des explications à cette observation. Une source qui a été proposée dans la littérature (Simoneit et al., 2007 ; Wang et al., 2007) est la combustion de charbon. Pourtant, selon nos connaissances, il n'y a pas d'activités aux alentours du site en question où de grandes quantités de charbon seraient brûlées.

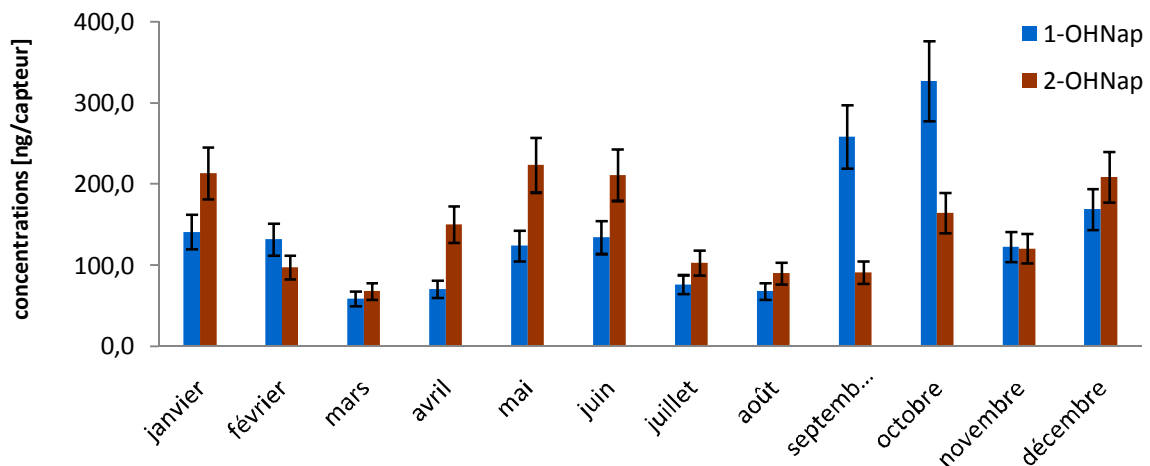
#### II.1.3.4.2. Variations en fonction du temps

Les variations des concentrations des métabolites détectés en fonction du temps ont été étudiées en comparant les moyennes mensuelles de chaque composé pour les cinq sites confondus (tableau II.13). Le 2-OHFlu n'a pas été considéré pour ces calculs, comme les trois détections > LQ n'ont pas permis de calculer des moyennes mensuelles raisonnables.

**Tableau II.13:** Quantités moyennes mensuelles (en ng/capteur) pour les cinq sites confondus pour le 1-OHNap et le 2-OHNap ( $\pm$  écart-type), et valeurs P des comparaisons des moyennes

	1-OHNap	2-OHNap
janvier	141,5 $\pm$ 34,7	213,7 $\pm$ 46,6
février	132,2 $\pm$ 29,6	98,0 $\pm$ 40,9
mars	59,2 $\pm$ 31,2	68,4 $\pm$ 43,0
avril	71,2 $\pm$ 59,3	150,6 $\pm$ 114,7
mai	124,3 $\pm$ 110,6	223,8 $\pm$ 147,4
juin	134,6 $\pm$ 106,7	211,7 $\pm$ 139,8
juillet	76,9 $\pm$ 25,6	103,4 $\pm$ 40,5
août	68,5 $\pm$ 10,3	90,4 $\pm$ 34,2
septembre	258,9 $\pm$ 269,0	91,5 $\pm$ 50,1
octobre	327,3 $\pm$ 265,9	164,9 $\pm$ 49,4
novembre	123,3 $\pm$ 97,2	121,0 $\pm$ 94,6
décembre	169,4 $\pm$ 79,1	209,1 $\pm$ 54,4
valeur P	0,081	<b>0,031</b>

Les calculs statistiques ont montré que les variations du 2-OHNap en fonction du temps sont statistiquement significatives ( $P = 0,031$ ), et la valeur  $P$  de la comparaison des moyennes mensuelles du 1-OHNap est proche du seuil imposé de 0,05. Les variations pour les deux composés sont représentées graphiquement dans la figure II.13.



**Figure II.13 :** Variations temporelles des quantités moyennes mensuelles en 1-OHNap et 2-OHNap sur les capteurs

Les concentrations de 1-OHNap ont été maximales en septembre et en octobre et celles de 2-OHNap ont montré deux maxima, un premier au printemps (mai et juin) et un deuxième en hiver (décembre et janvier). Ces observations sont en opposition avec celles faites par Wang et al. (2007) qui ont observé des concentrations en OH-HAPs plus élevées en Chine en hiver à cause d'une combustion de charbon plus élevée pour des raisons de chauffage.

La concentration en 1-OHNap particulièrement élevée à Luxembourg 1 et le fait que les concentrations atmosphériques n'ont pas été plus élevées en hiver qu'en été, suggèrent qu'au Luxembourg, contrairement à la Chine, la présence d'OH-HAPs dans l'atmosphère n'est pas majoritairement due à la combustion de charbon. Pourtant, les informations disponibles à l'heure actuelle ne permettent pas d'identifier les sources émettrices d'OH-HAPs au Luxembourg.

## II.1.4. Conclusions

Cette étude a montré que les capteurs passifs XAD-2 permettent d'obtenir des informations sur les HAPs présents dans l'air et il a été possible de mettre en évidence des variations des concentrations atmosphériques des HAPs en fonction du site de prélèvement et du temps, mais il semble que celles-ci soient influencées par des phénomènes météorologiques comme la température ambiante et la conception du site d'échantillonnage (p.ex. à travers l'accessibilité du vent au capteur). Des questions ont été soulevées quant aux mécanismes d'adsorption des molécules sur les capteurs proposés par Wania et al. (2003) pour les pesticides organochlorés, puisqu'il semble qu'un équilibre dynamique s'établisse entre le capteur et l'air ambiant. Ces observations n'ont pourtant pas été assez explicites pour pouvoir confirmer nettement cette hypothèse, mais montrent qu'il existe encore beaucoup d'inconnues concernant les mécanismes d'adsorption des HAPs sur les capteurs. Les capteurs passifs sont un outil très puissant pour évaluer la contamination atmosphérique en HAPs et pour en étudier l'évolution sur différents sites et identifier des sites à concentrations en HAPs élevées, mais les mécanismes d'adsorption doivent encore être étudiés davantage. Ceci pourrait se faire par l'exposition de capteurs passifs dans des atmosphères contrôlées ou en faisant des prélèvements actifs en parallèle aux prélèvements passifs, pour pouvoir trancher sur la question soulevée dans cette étude, à savoir si les HAPs s'accumulent sur les capteurs ou si un équilibre s'établit entre le capteur et l'air ambiant.

Un autre objectif de cette étude a été d'évaluer la contamination de l'atmosphère en OH-HAPs en vue d'estimer le risque de contamination externe des cheveux par ces composés (voir chapitre II.2 ci-après). Les premières observations suggèrent que les OH-HAPs sont beaucoup moins présents dans l'air que les HAPs, vu qu'uniquement 3 des 12 métabolites recherchés ont été identifiés sur les capteurs. De plus, leurs concentrations ont été largement inférieures à celles des substances mères respectives, ce qui permet de confirmer que le fait de doser les OH-HAPs dans les cheveux et non les HAPs directement permet de réduire significativement le risque de contamination externe. Certains métabolites pouvant néanmoins se déposer sur les cheveux, il est recommandé de faire une décontamination des cheveux avant analyse.



## II.2. Détermination des OH-HAPs dans les cheveux

Les objectifs de cette étude ont été de vérifier si les OH-HAPs s'incorporent dans les cheveux à des quantités mesurables et d'étudier si l'effet de contamination externe peut être évité malgré les faibles concentrations en OH-HAPs mesurées dans l'atmosphère. Ensuite, les cheveux de fumeurs et de non-fumeurs ont été analysés et les variations dans les concentrations en OH-HAPs mesurées ont été étudiées.

### II.2.1. Analyse des OH-HAPs

L'analyse des OH-HAPs dans les cheveux a été faite par CPG-SM/ICN après dérivation au (S,R)-HFBOPCl (voir § II.1.3. page 72). Les conditions de dérivation des OH-HAPs étaient identiques à celles optimisées pour l'analyse des OH-HAPs dans l'air (voir § II.1.3.2. page 74), mais l'analyse a été faite avec une autre chaîne CPG-SM/ICN.

#### II.2.1.1. Instrumentation

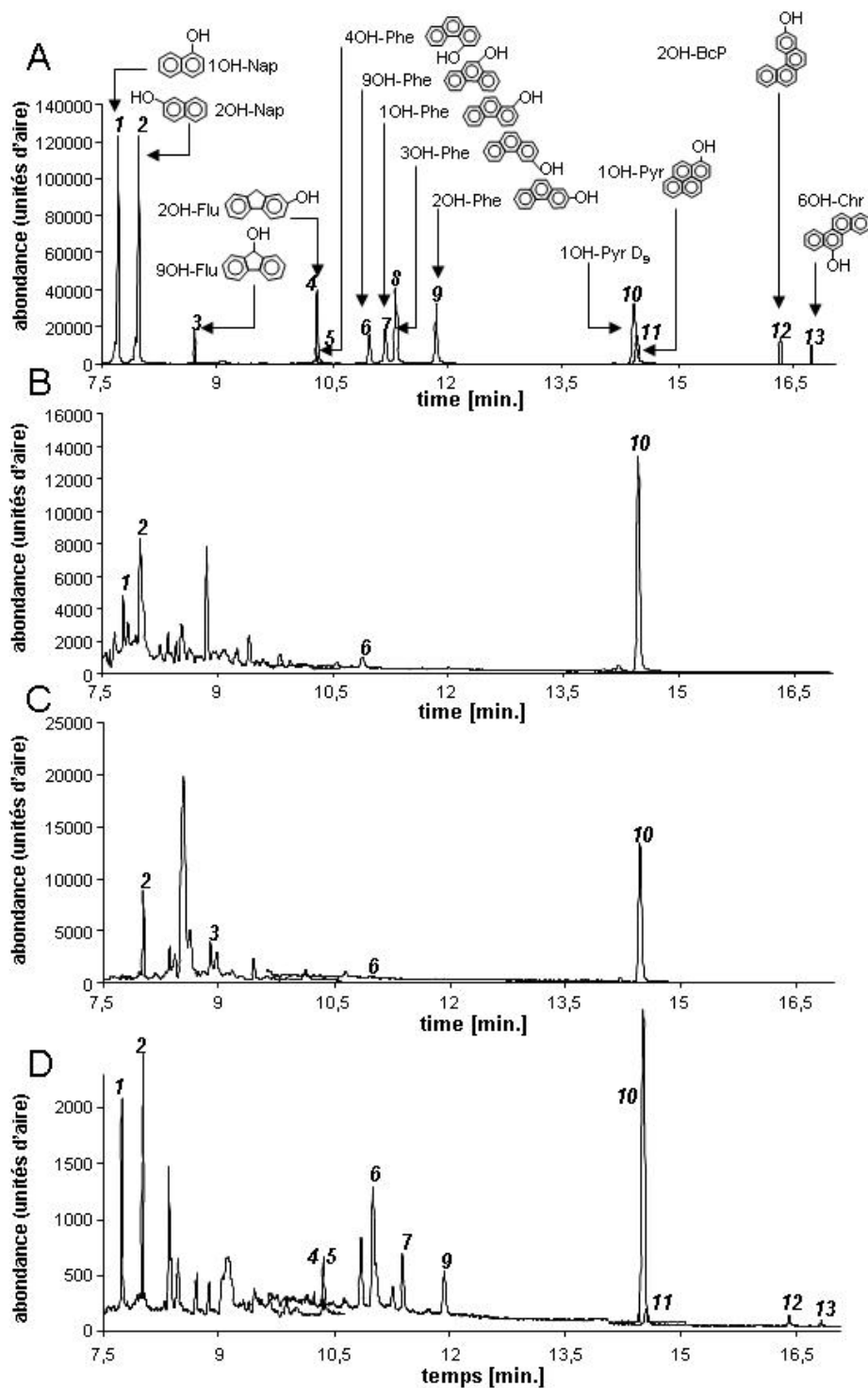
La séparation chromatographique des OH-HAPs a été faite avec un chromatographe d'Agilent (6890 série II) équipé d'un échantillonneur automatique (7673A) et d'une colonne capillaire HP-5MS (5 % méthyl – 95 % phénylsiloxane ; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). La température de la chambre d'injection a été fixée à 260 °C, celle de la ligne de transfert CPG-SM à 280 °C, et le gaz vecteur a été l'hélium avec un flux de 1 mL/min. 3 µL de l'échantillon ont été injectés en mode « splitless » pulsé et une séparation optimale a été obtenue avec le programme de température suivant : température initiale de 100 °C, après 2 minutes augmentation à 40 °C/min. jusqu'à 235 °C, augmentation à 10 °C/min. jusqu'à 280 °C, palier de température de 3 minutes, augmentation à 10 °C jusqu'à 300 °C. La température finale a été maintenue pendant 5 minutes.

L'analyse SM a été faite avec un spectromètre de masse d'Agilent (5073) opéré en mode ionisation chimique négative en utilisant le méthane (avec un flux de 40 %) comme gaz réactif d'ionisation. Les fragments caractéristiques utilisés pour l'analyse (un fragment pour

la quantification et un ou trois fragments pour la confirmation) ont été donnés plus haut dans le tableau II.9 page 74.

### **II.2.1.2. Préparation des échantillons de cheveux**

Les cheveux (en échantillons d'environ 50 mg) ont été coupés en segments de 2 à 3 mm et pulvérisés dans un broyeur à billes. La poudre ainsi obtenue a été dopée avec 0,1 nmol 1-OHPyr-D<sub>9</sub> (standard interne) et incubée dans une étuve à 60 °C pendant 5 minutes pour évaporer le solvant dans lequel le standard interne a été dissout. Ensuite, les cheveux pulvérisés ont été dissouts dans 2 mL NaOH 1M à 60 °C pendant 30 minutes et centrifugés à 5000 tours/min. pendant 10 minutes. Le surnageant a été récupéré et ramené à pH 5 avec 1 mL de tampon acétate à pH 5 et 800 µL d'HCl 2M. Les OH-HAPs ont été extraits en ajoutant 2 mL de dichlorométhane au mélange qui a ensuite été agité pendant 15 minutes et centrifugé à 5000 tours/min. pendant 3 minutes. La phase organique a été récupérée et l'extraction liquide-liquide a été répétée une deuxième fois. Les deux phases organiques ont été combinées et évaporées à sec sous un léger flux d'azote. Le résidu a été repris dans 200 µL d'un tampon carbonate à pH 10, et 20 µL de (S,R)-HFBOPCl à 0,2 M ont été ajoutés pour dériver les métabolites comme décrit sous II.1.3.2. (page 74). 3 µL de la phase organique obtenue ont été injectés en CPG-MS/ICN pour l'analyse. Le réactif de dérivation utilisé [(S,R)-HFBOPCl] présente l'avantage de produire des dérivés de très grand poids moléculaire permettant de scanner sur des masses élevées en SM. Les chromatogrammes obtenus après l'analyse ont montré très peu de bruits de fonds, même avec une matrice aussi complexe que les cheveux (figure II.14).



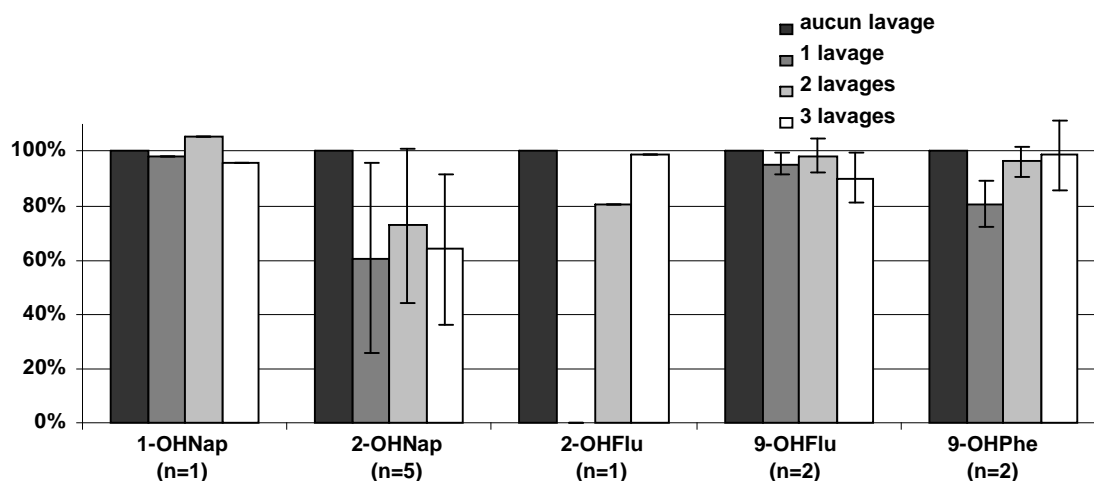
**Figure II.14 :** Chromatogrammes obtenus après l'analyse d'une solution standard contenant tous les OH-HAPs analysés (A), l'extrait d'un échantillon de cheveux d'un fumeur (B), l'extrait d'un échantillon de cheveux d'un non-fumeur (C), et l'extrait d'un échantillon de cheveux (d'un fumeur) où presque tous les métabolites recherchés ont été détectés (D).

### **II.2.1.3. Influence d'une étape de décontamination des cheveux**

L'étape de décontamination des cheveux a été nécessaire pour enlever les résidus éventuels de produits cosmétiques (savon), les poussières, les dépôts de sueur et de sébum et l'éventuelle contamination externe des OH-HAPs présents dans l'air. Les OH-HAPs étant des molécules polaires hydrosolubles, il a été décidé de laver les cheveux avec de l'eau qui n'altère pas la structure des cheveux et ne risque pas d'extraire des molécules incorporées dans les cheveux.

Les essais de décontamination ont été faits sur des échantillons de cheveux prélevés auprès de huit volontaires (trois fumeurs et cinq non-fumeurs). Pour chaque sujet, un échantillon de 200 mg a été utilisé. 50 mg ont été analysés directement sans lavage et ont servi comme échantillon de référence. Les 150 mg restants ont été agités dans de l'eau distillée pendant 15 minutes et séchés sous deux feuilles de papier absorbant. Ce lavage a été répété deux fois. Après chacun des trois cycles de lavage, 50 mg de cheveux ont été enlevés de l'ensemble des cheveux et analysés. Toutes ces expériences ont été réalisées en triplicata.

Dans les huit échantillons confondus, seulement cinq métabolites ont été détectés : 1-OHNap (1 échantillon), 2-OHNap (cinq échantillons), 2-OHFlu (1 échantillon), 9-OHFlu (2 échantillons) et 9-OHPhe (deux échantillons) (figure II.15).



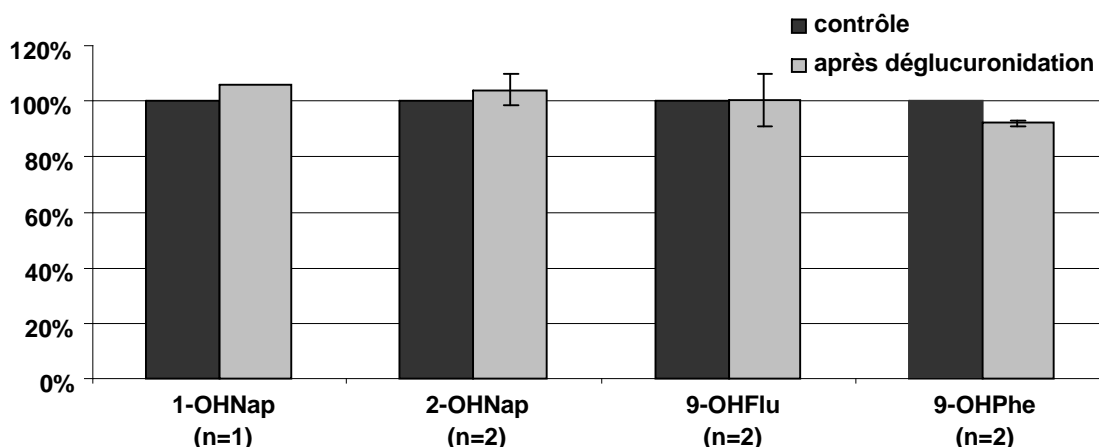
**Figure II.15 :** Influence du lavage des cheveux sur les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux. Cinq métabolites différents ont été détectés dans les huit échantillons de cheveux. Pour chaque OH-HAP, n représente le nombre d'échantillons dans lesquels la molécule a été identifiée. La valeur de référence (la concentration dans l'échantillon non-lavé) a été fixée à 100 % et les concentrations observées après 1, 2 et 3 lavages ont été exprimées en pourcents de cette valeur de référence. Les barres d'erreur correspondent à la variation standard associée.

Une diminution des concentrations après une étape de lavage n'a été observée que pour le 2-OHNap, mais cette diminution n'est pas statistiquement significative ( $P > 0,05$ ). Pour tous les autres composés, les lavages n'ont eu aucune influence sur les concentrations des OH-HAPs dans les cheveux. Ceci confirme que les métabolites étudiés sont majoritairement localisés dans le cortex des cheveux et non à la surface. L'incorporation des OH-HAPs dans les cheveux se fait donc majoritairement par filtration des vaisseaux sanguins dans le cortex du cheveu dans la période de croissance. De plus, les OH-HAPs compris dans l'air ne se déposent pas sur les cheveux à des quantités mesurables, éventuellement à l'exception du 2-OHNap pour qui une diminution des concentrations après lavage a été observée, mais qui n'est pas statistiquement significative. Vu que les concentrations mesurées sont restées stables après le premier lavage, il a été décidé de décontaminer les cheveux par un lavage à l'eau distillée.

#### II.2.1.4. Influence d'une étape de déglucuronidation

L'analyse des OH-HAPs dans les urines nécessite d'enlever le groupement glucuronide qui s'est fixé sur les molécules pour faciliter leur excrétion du sang vers les urines (Jongeneelen et al., 1985, 1987 ; Strickland et al., 1996 ; Grimmer et al., 1997 ; Chetiyankornkul et al., 2006). Les OH-HAPs n'ayant jamais été détectés dans les cheveux jusque maintenant, il n'est pas connu si les OH-HAPs s'incorporent dans les cheveux sous forme glucuronidée ou hydroxylée. Pourtant, il est bien connu que d'autres métabolites passent dans les cheveux sous forme glucuronidée (p.ex. l'éthyl glucuronide, un métabolite de l'éthanol dosé dans les cheveux pour quantifier la consommation d'alcool) (Alt et al., 2000 ; Skopp et al., 2000), et ainsi il serait possible que les OH-HAPs s'incorporent également dans les cheveux sous forme glucuronidée. L'influence d'une étape de déglucuronidation a donc dû être évaluée. Pour ceci, des cheveux de deux volontaires (un fumeur et un non-fumeur) ont été lavés avec de l'eau distillée comme décrit ci-dessus (§ II.2.1.3. page 90), séchés et pulvérisés. Les échantillons ont été divisés en deux et chaque partie a été incubée dans 1 mL NaOH 1M, centrifugée et ramenée à pH 5. Un échantillon de chaque volontaire a été traité avec 20 µL de β-glucuronidase pendant que l'autre a été laissé inchangé. Tous les échantillons ont été incubés à 37 °C pendant 2 heures selon un protocole utilisé pour la déglucuronidation des OH-HAPs dans les urines (Chetiyankornkul et al., 2006), et extraits comme décrit ci-dessus. Toutes les expériences ont été faites en triplicata.

Quatre métabolites différents ont été identifiés dans les échantillons de cheveux analysés : 2-OHNap, 9-OHFlu et 9-OHPhe dans les cheveux du non-fumeur et 1-OHNap, 2-OHNap, 9-OHFlu et 9-OHPhe dans les cheveux du fumeur. Les traitements enzymatiques n'ont pas significativement influencé les concentrations des OH-HAPs en comparaison avec les échantillons de contrôle non-traités par les enzymes (figure II.16).



**Figure II.16 :** Influence d'un traitement enzymatique ( $\beta$ -glucuronidase) sur les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux. Quatre métabolites différents ont été identifiés dans les deux échantillons de cheveux utilisés pour la série d'essais. Pour chaque métabolite, la barre foncée représente l'échantillon de contrôle fixé à 100 %, et la barre claire l'échantillon traité par les enzymes (valeur moyenne si détecté dans les deux échantillons). Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard.

L'absence d'influences du traitement enzymatique sur les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux pourrait suggérer qu'il n'y ait pas d'OH-HAPs glucuronidés dans les cheveux ou que leur concentration soit négligeable par rapport aux concentrations des OH-HAPs hydroxylés. Une explication plus plausible est toutefois que les métabolites glucuronidés – s'ils s'incorporent dans les cheveux – aient été déglucuronidés dans l'étape de dissolution des cheveux dans la soude. Le traitement enzymatique n'affectant pas significativement les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux, il a été décidé de ne pas faire d'étape de glucuronidation dans la présente étude.

### II.2.1.5. Validation de la méthode

La calibration de la méthode a été faite en dopant des cheveux « blancs » (ayant des concentrations en OH-HAPs en-dessous de la limite de détection) avec les concentrations suivantes : 0, 0,1, 1, 2, 4, 6, 8 et 10 nmol/g pour les OHNaps et 0, 0,02, 0,2, 0,4, 0,8, 1,2, 1,6 et 2 nmol/g pour les autres OH-HAPs. L'étalonnage interne a été fait en ajoutant 50  $\mu$ L d'une solution de 1-OHPyr-D<sub>9</sub> (2  $\mu$ mol/L) à chaque échantillon. Les limites de détection (LD) ont été fixées comme étant la concentration la plus faible pour laquelle tous les fragments

(m/z) spécifiques d'un composé ont pu être détectés. Les limites de quantification (LQ) ont été fixées comme étant dix fois le rapport signal/bruit. Les variations intra- et inter-jour ont été déterminées sur des échantillons de cheveux dopés avec deux quantités différentes d'OH-HAPs : 1 nmol/g pour les OHNaps, 0,2 nmol/g pour les autres OH-HAPs, 8 nmol/g pour les OHNaps et 1,6 nmol/g pour les autres OH-HAPs. Le rendement d'extraction a été déterminé en calculant le rapport des réponses analytiques d'extraits de cheveux dopés juste avant l'étape de dérivation et d'extraits dopés tout au début de la préparation des échantillons. Les paramètres de validation de la méthode sont donnés dans le tableau II.14.



**Tableau II.14 :** Paramètres de validation de la méthode.  $R^2$  = coefficient de détermination de la courbe de calibration ; CV = coefficient de variation ; BC = basse concentration :  $1 \cdot 10^{-9}$  mol/g pour les OHNaps,  $2 \cdot 10^{-10}$  mol/g pour les autres OH-HAPs ; HC = haute concentration :  $8 \cdot 10^{-9}$  mol/g pour les OHNaps,  $1,6 \cdot 10^{-9}$  mol/g pour les autres OH-HAPs

Molécules	$R^2$	CV [%]						Rendement d'extraction [%]		
		Inter-jour (n = 3)		Intra-jour (n = 4)		LD [pmol/g] (n = 3)	LQ [pmol/g] (n = 3)	BC	HC	Moyenne
		BC	HC	BC	HC					
1-OHNap	0,983	10,3	17,3	33,3	21,3	38,2	125,5	125	48,4	47,3
2-OHNap	0,988	10,5	12,5	34,9	10,2	31,5	104,9	45,3	51,0	48,5
2-OHFlu	0,991	10,1	10,3	12,8	21,5	23,3	75,0	43,6	59,9	51,0
9-OHFlu	0,991	15,7	14,1	29,0	7,2	300,5	1050	88,9	45,5	66,4
1-OHPhe	0,989	7,4	12,0	8,5	9,6	20,9	66,5	44,8	64,2	54,1
2-OHPhe	0,980	10,8	13,8	14,2	3,4	26,6	86,3	48,4	75,0	61,2
3-OHPhe	0,994	8,5	19,6	17,5	21,5	48,8	160,4	45,1	55,8	50,7
4-OHPhe	0,996	15,0	17,6	26,3	28,9	43,4	143,1	60,3	45,6	52,0
9-OHPhe	0,993	17,2	7,4	19,7	9,0	57,6	190,7	45,2	48,8	47,3
1-OHPyr	0,996	12,6	13,6	14,5	12,3	77,3	258,3	49,0	71,1	60,6
2-OHB(c)P	0,994	4,2	2,3	5,3	8,4	311,2	1030	22,6	62,2	42,7
6-OHChr	0,983	18,7	19,8	2,5	35,7	109,9	366,8	27,5	56,5	42,3

Les variations inter- et intra-jour ont varié de 2,3 (2-OHBcP) à 19,6 % (3-OHPhe) respectivement de 2,5 (6-OHChr) à 34,9 % (2-OHNap), et le rendement d'extraction de 22,6 (2-OHBcP) à 88,9 % (9-OHFlu). Les limites de détection et de quantification ont varié de 20,9 (1-OHPhe) à 311,2 pmol/g (2-OHBcP) et de 66,5 (1-OHPhe) à 1050 pmol/g (9-OHFlu).

Les analyses de cheveux sont souvent accompagnées de nombreuses contraintes analytiques. La présence de restes de sueur et de sébum ainsi que de nombreux produits secondaires (acides aminés, lipides,...) augmentent le bruit de fond et diminuent significativement la sensibilité de la méthode. De plus, les quantités d'échantillons disponibles sont très faibles (souvent moins que 50 mg) comparées à d'autres matrices comme les urines, et les faibles concentrations des xénobiotiques dans les cheveux font en sorte que la quantité d'analytes à doser soit minime. Ceci entraîne souvent des variations élevées et des répétabilités et rendements faibles dans ce genre d'analyses. Comme les OH-HAPs n'ont encore jamais été déterminés dans les cheveux, les valeurs décrites ne peuvent pas être comparées à celles d'autres études. Des chercheurs ayant dosé les OH-HAPs dans les urines ont rapporté des rendements compris entre 40 et 50 % (Elovaara et al., 2003 ; Luan et al., 2007), donc des valeurs comparables à celles obtenues dans cette étude. Les limites obtenues dans la présente étude étaient comparables à celles obtenues pour des molécules typiquement analysées en médecine légale (p.ex. 145 pmol/g pour la morphine et 28 pmol/g pour la cocaïne) (Scheidweiler et Huestis, 2004). Les paramètres de validation obtenus semblent ainsi être tout à fait acceptables pour l'analyse des OH-HAPs dans les cheveux.

## **II.2.2. Détermination des OH-HAPs dans les cheveux humains**

Il est connu que le tabagisme présente une source d'exposition importante pour les personnes concernées (Sherson et al., 1992 ; Jongeneelen, 1997 ; Culea et al., 2005 ; Freire et al., 2009). Ainsi, il a été étudié si des différences entre les concentrations en OH-HAPs dans les cheveux de fumeurs et de non-fumeurs peuvent être observées.

### **II.2.2.1. Collecte d'échantillons**

Des échantillons de cheveux ont été prélevés auprès de 144 volontaires recrutés au hasard parmi la population du Luxembourg. Selon les auto-déclarations des volontaires, 81 étaient des fumeurs et 63 des non-fumeurs. Tous les volontaires ont été informés sur la

procédure et sur les objectifs de l'étude et ont donné leur consentement sous forme écrite. L'étude a été approuvée par le Comité National d'Ethique de Recherche du Luxembourg.

Des mèches de cheveux de 50 à 300 mg ont été coupées avec des ciseaux. Les prélèvements ont été faits sur la partie arrière du crâne et le plus proche possible du cuir chevelu. Après le prélèvement, les cheveux ont été emballés dans de l'aluminium et stockés au noir et à température ambiante jusqu'à l'analyse. Les analyses ont été faites au plus tard une semaine après le prélèvement.

### II.2.2.2. Analyse des échantillons de cheveux collectés

Les échantillons de cheveux collectés ont été décontaminés et analysés comme décrit ci-dessus (II.2.1.1 et II.2.1.2 pages 87 et 88). Tous les métabolites recherchés ont été détectés au moins une fois. Les résultats sont résumés dans le tableau II.15.

**Tableau II.15 :** Résultats des analyses des échantillons de cheveux en nmol/g.  
F.D. = fréquence de détection.

Compound	F.D.	Minimum	Maximum	Moyenne
1-OHNap	11,8 %	<LQ	56,54	15,63
2-OHNap	68,7 %	<LQ	98,61	3,52
2-OHFlu	5,5 %	<LQ	0,24	0,24
9-OHFlu	13,8 %	<LQ	3,73	3,73
1-OHPhe	2,0 %	0,09	0,33	0,18
2-OHPhe	2,7 %	0,08	0,28	0,15
3-OHPhe	5,5 %	<LQ	0,18	0,18
4-OHPhe	1,3 %	<LQ	0,57	0,57
9-OHPhe	16,0 %	<LQ	20,65	3,76
1-OHPyr	1,3 %	<LQ	3,13	3,13
2-OHBcP	0,6 %	<LQ	<LQ	<LQ
6-OHChr	0,6 %	<LQ	<LQ	<LQ

Le 2-hydroxynaphtalène a été détecté le plus fréquemment avec 99 détections (68,7 %), suivi du 9-hydroxyphénanthrène (16,0 %), du 9-hydroxyfluorène (13,8 %) et du 1-hydroxynaphtalène (11,8 %) et. La concentration moyenne du 1-OHNap a été de loin la

plus élevée, suivie de celles du 9-OHPhe, du 9-OHFlu, du 2-OHNap, et du 1-OHPyr dont les concentrations ont varié de 3,76 à 3,13 nmol/g.

Le nombre de composés détectés simultanément dans un seul échantillon ne dépassait pas quatre à la fois, à l'exception d'un échantillon (d'un fumeur) dans lequel 10 des 12 métabolites recherchés ont été détectés. Ce volontaire est en même temps le seul auprès de qui le 2-OHBcP et le 6-OHChr ont été identifiés. Uniquement le 9-OHFlu et le 3-OHPhe n'y ont pas été détectés (figure II.14.D page 89). Même si les concentrations des deux métabolites du naphthalène ont été relativement faibles dans les cheveux de ce volontaire (1,56 et 1,11 nmol/g, respectivement), la plupart des autres composés détectés ont présenté les concentrations les plus hautes mesurées dans toute l'étude.

La concentration moyenne de tous les OH-HAPs a été plus élevée pour le groupe des fumeurs ( $6,09 \pm 16,45$  nmol/g) que pour le groupe des non-fumeurs ( $1,12 \pm 3,40$  nmol/g). Le 2-OHNap et le 9-OHPhe ont été détectés le plus souvent dans les deux groupes de volontaires, et il a été étudié si des différences statistiquement significatives existent entre les concentrations moyennes dans les cheveux des fumeurs et des non-fumeurs. Pourtant, aucune relation statistiquement significative n'a pu être identifiée ( $P = 0,597$  pour le 2-OHNap et  $P = 0,762$  pour le 9-OHPhe). 9 métabolites différents ont été détectés dans les cheveux des non-fumeurs (1-OHPyr, 2-OHBcP et 6-OHChr y étaient absents), pendant que, dans les cheveux des fumeurs, tous les douze métabolites ont été détectés au moins une fois.

Une observation intéressante a quand même pu être faite : le 1-OHNap a été détecté 16 fois dans les cheveux de fumeurs, mais uniquement une seule fois dans les cheveux d'un non-fumeur, et la concentration en a été largement inférieure à la concentration moyenne mesurée dans les cheveux des fumeurs ( $21,2 \pm 21,3$  nmol/g pour les fumeurs contre 2,97 nmol/g pour le non-fumeur).

L'occurrence importante des OHNaps, comparée à celle des autres OH-HAPs, est en accord avec les observations de Toriba et al. (2003) qui ont observé que le naphthalène est l'HAP le plus concentré dans les cheveux. De plus, Väänänen et al. (2003), Chetiyankornkul et al. (2006) et Elovaara et al. (2006) ont montré que les hydroxynaphthalènes sont les métabolites les plus concentrés dans les urines humaines (Väänänen et al., 2003 ;

Chetiyankornkul et al., 2006 ; Elovaara et al., 2006). Même si des différences statistiquement significatives entre les concentrations des fumeurs et des non-fumeurs n'ont pas été observées dans cette étude, il a quand même été possible d'observer quelques tendances très intéressantes, comme le fait signalé que le 1-OHNaP a été détecté 16 fois dans les cheveux de fumeurs contre une seule fois dans les cheveux de non-fumeurs.

La méthode présentée ici pour l'analyse de 12 métabolites peut également être appliquée à d'autres OH-HAPs, comme les métabolites du benzo(a)pyrène qui est plus cancérigène que les HAPs étudiés ici.

### **II.2.3. Conclusions sur l'intérêt des analyses de cheveux pour mettre en évidence l'exposition humaine aux HAPs**

En décrivant pour la première fois la possibilité de quantifier les métabolites monohydroxylés des HAPs dans les cheveux humains, ces travaux fournissent un nouvel outil pour mettre en évidence une exposition humaine aux HAPs. Cet outil combine la facilité du prélèvement des cheveux et du stockage des échantillons, avec la possibilité d'accéder à de très longues fenêtres de détection, permettant l'évaluation des expositions chroniques. La spécificité obtenue par le dosage de métabolites biologiques quasiment absents dans l'air réduit le risque d'influence d'une contamination externe sur le résultat. Même s'il n'a pas été possible de mettre en évidence des différences statistiquement significatives entre fumeurs et non-fumeurs, les variations inter-individus qualitatives et quantitatives observées suggèrent que la méthode développée permet d'observer des différences dans l'exposition individuelle aux HAPs et qu'elle peut être appliquée à une population bien plus large avec des personnes ayant différentes habitudes personnelles (p.ex. des alimentations différentes), différentes professions et différents lieux de vie, pour faire une étude épidémiologique de l'exposition humaine aux HAPs.

## II.3. Conclusions générales du chapitre II

Dans ce chapitre il a été tâché de proposer une approche combinée d'analyses d'air à l'aide de capteurs passifs et d'analyses de cheveux pour le biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs. Les résultats obtenus montrent que les capteurs permettent l'échantillonnage des HAPs atmosphériques et d'en mettre en évidence les variations spatio-temporelles. D'autre part, le dosage d'OH-HAPs dans les cheveux permet d'informer sur l'intensité de l'exposition humaine aux HAPs en réduisant significativement le risque de contaminations externes. La combinaison des deux outils donne une impression globale assez complète de l'exposition effective de l'homme aux HAPs. Les analyses de cheveux permettent d'identifier des personnes ayant des expositions aux HAPs particulièrement élevées, et les analyses d'air avec les capteurs passifs XAD-2 aident à évaluer le niveau de contamination en HAPs de sites déterminés et à localiser certaines pollutions au niveau spatial et temporel. Pourtant, vu le caractère novateur de cette étude, un certain nombre d'investigations restent faire. Les capteurs passifs utilisés ici ont su donner des informations intéressantes sur les variations des concentrations atmosphériques en HAPs en fonction du site et du temps, mais, parce qu'il n'était pas possible de quantifier le volume d'air analysé, l'interprétation des résultats reste difficile. En ce qui concerne les cheveux, il a pu être montré que des différences dans l'exposition aux HAPs peuvent être mises en évidence, mais, à l'heure actuelle, il n'est pas connu si ces analyses informent sur des expositions ayant eu lieu dans un passé plus lointain et sur quelle durée l'exposition chronique aux HAPs peut être étudiée. Ceci doit faire l'objet d'études futures.

## **Chapitre III : L'exposition humaine aux pesticides**

La deuxième classe de polluants organiques étudiée dans ce travail est celle des pesticides. Dans les pays présentant une activité agricole importante, ces composés peuvent être à l'origine d'effets néfastes sur la santé, notamment par les situations d'expositions chroniques qu'ils peuvent générer. Le biomonitoring de l'exposition humaine aux pesticides est donc d'une importance majeure, mais, à l'heure actuelle, celui-ci est focalisé majoritairement sur les pesticides organochlorés, alors que les pesticides utilisés pour le moment dans l'agriculture en Europe occidentale ont été négligés. Dans l'objectif de combler ce déficit, les matrices air et cheveux ont été étudiées dans ces travaux de thèse afin de proposer, de la même manière que pour le chapitre précédent sur les HAPs, une première approche combinée pour mettre en évidence l'évaluation de l'exposition humaine aux pesticides les plus utilisés à l'heure actuelle.

### **III.1. Analyse des pesticides dans l'air à l'aide de capteurs passifs**

Les objectifs de cette partie ont été d'étendre le ABM de l'exposition aux pesticides sur les substances utilisées actuellement. Pour ceci, il a fallu vérifier si ces composés s'adsorbent sur les capteurs passifs XAD-2 et si ces capteurs permettent d'étudier les variations des concentrations atmosphériques en pesticides en fonction du site de prélèvement et du temps.

#### **III.1.1. Rappels sur l'échantillonnage**

Les échantillonnages ont été faits avec des capteurs passifs XAD-2, parce que les pesticides étudiés ici ont plus d'affinités pour cette résine que pour la mousse de polyuréthane (Dobson et al., 2006). Les détails concernant les sites de prélèvements, les durées d'exposition des capteurs et leur extraction en ASE ont été donnés dans le chapitre précédent sous le point § II.1.1. page 46. Brièvement, les capteurs ont été exposés sur cinq sites au Luxembourg (§ II.1.1.2. pages 47 et 48), soit deux sites ruraux (Bissen et Remich) où des applications importantes de pesticides ont lieu, et trois sites urbains ou semi-urbains



(Luxembourg 1 et 2, Schifflange) où il n'y a pas ou que très peu d'applications de pesticides. Les capteurs ont été exposés entre le 20 juin 2008 et le 20 octobre 2009 pendant une durée totale d'environ un an pour chaque site et ont été remplacés à des intervalles variant entre un et deux mois et demi, temps d'exposition en accord avec l'échantillonnage de molécules présentes dans l'atmosphère à l'état de traces (Wania et al., 2003 ; Hayward et al., 2010). L'extraction a été faite avec de l'acétonitrile chauffé à 150 °C et pressurisé à 100 bars (en se servant de l'ASE). 50 pesticides ont été recherchés dans l'air (voir tableau I.3 page 42) regroupant 28 fongicides, 13 herbicides et 9 insecticides utilisés à l'heure actuelle dans l'agriculture au Luxembourg ou ayant été retirés du marché après 2003 (données fournies par l'Institut Viti-Vinicole du Luxembourg ; <http://www.ivv.public.lu>).

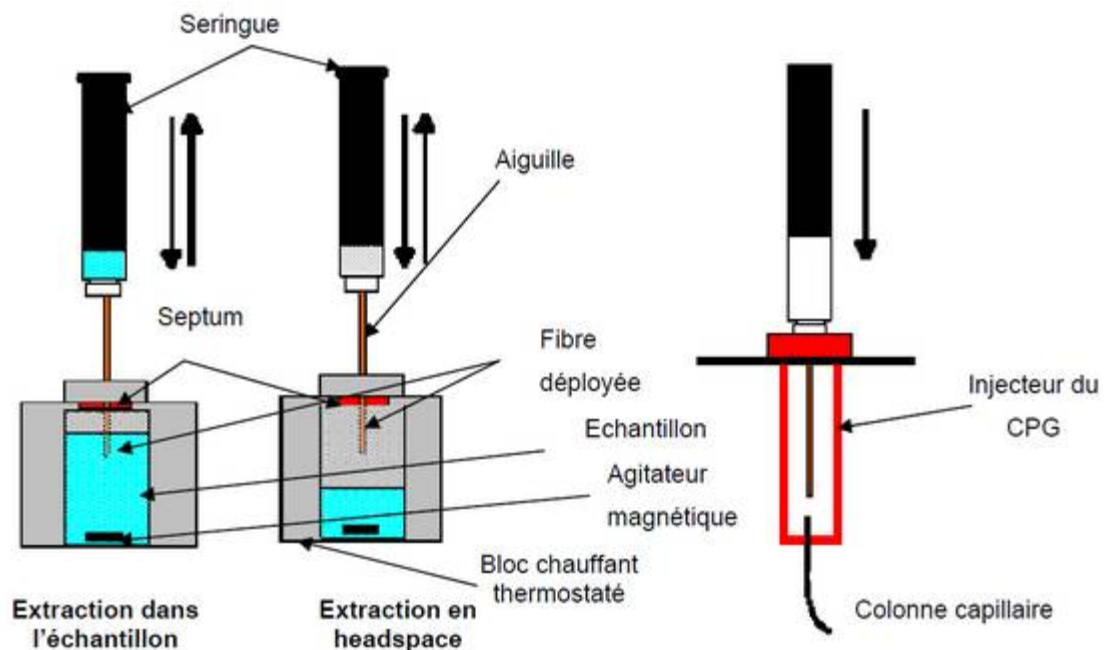
### **III.1.2. Analyse des pesticides**

La séparation de pesticides a été faite par chromatographie en phase gazeuse et l'analyse par spectrométrie de masse en tandem (trappe d'ions) (Scheyer, 2004). L'ionisation des pesticides a été faite en mode impact électronique qui, vu sa faible spécificité, est bien adapté à l'analyse d'un grand nombre de molécules à propriétés physico-chimiques différentes. Pourtant, la fragmentation des pesticides par ce mode d'ionisation résulte dans une fragmentation très vaste avec beaucoup de fragments légers et pas ou très peu de fragments lourds. Il n'est donc pas toujours possible d'isoler des fragments lourds pour l'identification des pesticides en SM qui doit donc se faire sur les fragments de faible masse. Ceci entraîne, même en spectrométrie de masse en tandem, des interférences importantes dues à des impuretés dans les échantillons, ce qui augmente les limites de détection. Il est donc préférable de purifier l'extrait avant l'analyse, ce qui a été fait avec la SPME (« Solid Phase Micro-Extraction ») qui s'est montrée bien adaptée à l'extraction simultanée d'un grand nombre de substances à propriétés physico-chimiques différentes (Eisert et al., 1997 ; Hu et al., 1999 ; Hernandez et al., 2000 ; Sanusi et al., 2001).

#### **III.1.2.1. Préconcentration des analytes par SPME**

La technique de la SPME est basée sur le coefficient de partage des analytes entre une fibre recouverte de phase stationnaire et l'échantillon. La fibre est constituée d'un filament fin en silice fondue ou en acier, couvert d'une fine couche de phase stationnaire de matériel

adsorbant (voir figure III.1), p.ex. de polydiméthylsiloxane (PDMS), de polyacrylate ou de poly-éthylène glycole (Carbowax) ainsi que leurs modifications, mélanges ou copolymères.



**Figure III.1** : Schéma de l'utilisation d'une fibre SPME (Scheyer, 2004)

Quand une fibre SPME est exposée aux vapeurs au-dessus d'une solution (« Headspace » ; espace de tête) ou en la plongeant dedans (extraction dans l'échantillon), elle démarre un processus de transfert de masses animé par le deuxième principe de la thermodynamique selon lequel le potentiel chimique de chaque composant doit être égal à travers tout le système. Les espèces chimiques capables de migrer d'une phase (vapeur ou liquide) à une autre (revêtement de la fibre) vont croiser l'interface jusqu'à ce que leurs concentrations soient telles que leurs énergies moléculaires libres soient identiques dans tout le système formé par la fibre SPME et l'échantillon. Des quantités de transfert relativement petites de la phase liquide ou vapeur vont causer des changements de concentration importants en analytes sur la fibre à cause du volume très faible du revêtement. Cette méthode permet en général d'éviter les pertes qui peuvent arriver pendant les étapes d'extraction, de concentration et de purification des méthodes analytiques traditionnelles, du fait que toutes ces opérations sont combinées dans une seule

étape. Un aspect souvent limitatif de la SPME est qu'elle requiert un milieu aqueux ne contenant que des proportions faibles en solvants organiques (entre 5 et 30 %, selon le solvant organique et la fibre SPME utilisée) (Koide et al., 1998 ; Negrão et Alpendurada, 1998 ; Lucas et al., 2000 ; Hernandez et al., 2000 ; Curren et King, 2001 ; Sanusi et al., 2001 ; Guillén et Sopelana, 2005 ; Mohammadi et al., 2005). Dans la présente étude, l'extrait du capteur obtenu après l'extraction à l'ASE et la concentration à l'évaporateur rotatif se trouve dans 1 mL d'acétonitrile. Cet extrait servant à la fois aux analyses d'HAPs, d'OH-HAPs et de pesticides, l'échantillon a été divisé en 2 parties de 500 µL (une partie pour l'analyse des HAPs et OH-HAPs et une partie pour l'analyse des pesticides). Ces 500 µL ont été mélangés avec 19,5 mL d'eau distillée, générant une solution aqueuse contenant 5 % de solvant organique, ce qui est toléré par la plupart des fibres SPME (Hernandez et al., 2000).

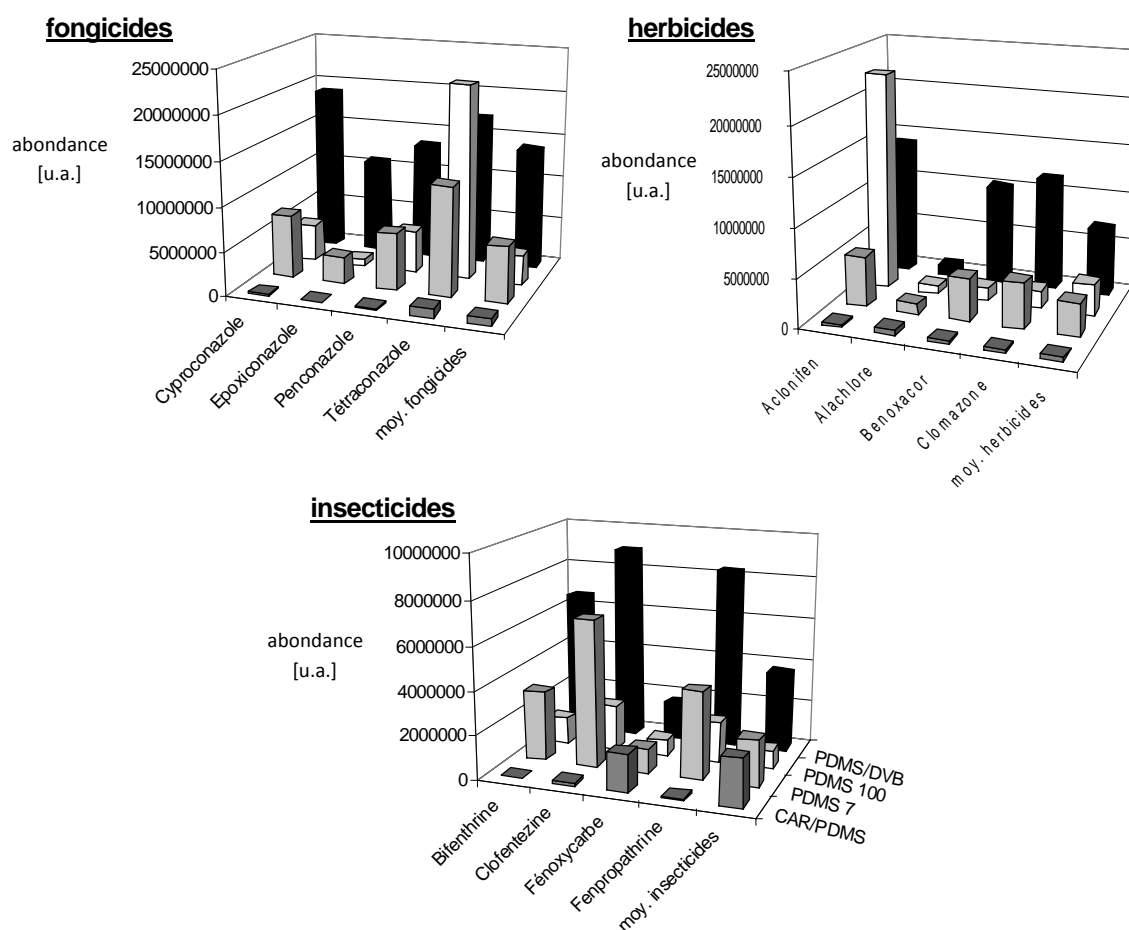
La mise au point d'une méthode d'extraction par SPME requiert l'optimisation de cinq paramètres, à savoir le choix de la fibre (la phase stationnaire), le mode de mise en œuvre (immersion directe ou espace de tête), le temps d'extraction (établissement de l'équilibre), la température d'extraction et la salinité du milieu (influençant la diffusion dans le milieu d'extraction). Tous les composés n'étant pas influencés de la même façon par ces paramètres, l'optimisation d'une méthode SPME équivaut très souvent à la recherche du meilleur compromis pour toutes les molécules analysées. Quand tous les paramètres ont été évalués et le meilleur compromis a été trouvé, il faut que ces conditions soient scrupuleusement respectées dans toutes les analyses, parce que de faibles altérations peuvent influencer significativement les rendements d'extraction. Pour éviter les fluctuations entraînées par l'usage manuel de la fibre SPME, un système SPME automatique (CTC CombiPal) contrôlant l'extraction, l'agitation, la température du mélange analysé et l'injection de la fibre dans le CPG, a été utilisé.

- Mise en œuvre de la fibre SPME

Lors des premiers essais, il a été observé que la plupart des pesticides lourds, avec des masses moléculaires supérieures à 350 g/mol, ne migrent pas dans la phase gazeuse à des températures inférieures à 90 °C. Les analyses ont donc été faites en mode immersion directe.

- Choix de la fibre

Les caractéristiques des phases stationnaires des fibres (épaisseur, porosité, composition chimique) vont jouer sur l'adsorption des molécules. Il faut donc tester plusieurs fibres ayant des phases stationnaires différentes afin de retenir la fibre qui permet d'extraire de manière satisfaisante tous les 50 pesticides recherchés. Quatre fibres différentes ont été testées, à savoir deux fibres de polydiméthylsiloxane (PDMS) d'épaisseurs différentes (7 et 100  $\mu\text{m}$ ), une fibre d'un mélange de polydiméthylsiloxane et de divinylbenzène (PDMS/DVB) et une fibre d'un mélange de carboxène et de polydiméthylsiloxane (CAR/PDMS). Les résultats sont résumés dans la figure III.2.

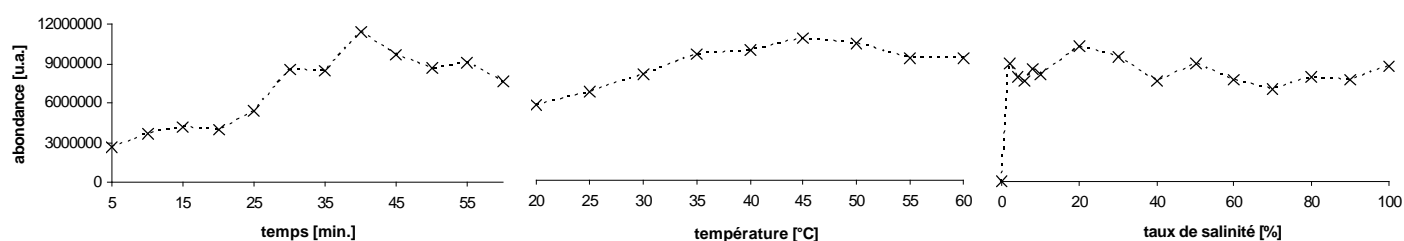


**Figure III.2 :** Comparaison des quatre fibres SPME : Réponses analytiques (en unités d'aire) obtenues pour certains fongicides, herbicides et insecticides, et la moyenne de chaque catégorie de pesticides, après extraction avec une fibre CAR/PDMS (gris foncé), une fibre PDMS 7  $\mu\text{m}$  (gris clair), une fibre PDMS 100  $\mu\text{m}$  (blanc) et une fibre PDMS/DVB (noir).

Pour la majorité des pesticides analysés, la réponse analytique la plus élevée a été obtenue avec une fibre PDMS/DVB. Pour certains pesticides, la réponse analytique était plus élevée avec une des trois autres fibres (p.ex. Alachlore, Tébufenpyrad), mais, dans l'analyse d'un nombre si élevé de pesticides, il faut forcément faire des compromis. La fibre PDMS/DVB a été retenue parce qu'elle donne la réponse analytique la plus forte pour la majorité des composés et qu'elle permet d'extraire tous les pesticides recherchés, ce qui n'a pas été le cas pour les trois autres fibres.

- Temps d'extraction

L'adsorption des pesticides sur la fibre SPME repose sur l'établissement d'un équilibre de partage entre la phase liquide de l'échantillon et la phase solide de la fibre. Il s'en suit que le temps d'immersion de la fibre joue un rôle très important. Plusieurs temps d'immersion ont été testés : 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 et 60 minutes. La température de l'échantillon a été fixée à 45 °C. Le suivi de la réponse analytique sous forme d'aires de pics en fonction du temps est donné sous forme graphique dans la figure III.3.



**Figure III.3 :** Variations de la réponse analytique moyenne (en unités d'aire) avec les paramètres temps d'extraction, température de la solution, et taux de salinité de la phase aqueuse de l'échantillon.

Vu les différences de propriétés entre les différents pesticides (polarité, hydrophobicité,...), l'efficacité de l'extraction ne varie pas de la même façon pour tous les composés. Le choix du temps d'extraction a été fait en étudiant l'évolution de la réponse analytique moyenne de tous les pesticides analysés. Celle-ci a augmenté jusqu'à un temps

d'immersion de 40 minutes et a diminué ensuite. Le meilleur compromis pour l'établissement de l'équilibre de partage de tous les pesticides a été obtenu après 40 minutes d'immersion de la fibre, temps qui a ensuite été retenu pour le protocole final.

- **Température d'extraction**

L'équilibre de partage peut également dépendre de la température de la solution qui influence la cinétique de diffusion des composés dans l'eau. Neuf températures différentes ont été testées, à savoir 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 et 60 °C en maintenant un temps d'extraction de 40 minutes. Les résultats sont donnés dans la figure III.3 ci-dessus.

La réponse analytique moyenne varie relativement peu en fonction de la température qui ne semble donc pas avoir beaucoup d'influences sur l'établissement de l'équilibre entre l'échantillon et la fibre. La réponse a augmenté légèrement en passant de 20 à 45 °C et a légèrement diminué en passant de 45 à 60 °C. Cette diminution peut être due au fait que les pesticides volatils (p.ex. Clofentézine) passent dans l'espace de tête du flacon à partir de 45 °C, ce qui diminue leur concentration dans le milieu aqueux. La réponse analytique moyenne maximale étant atteinte à une température de 45 °C, celle-ci a été retenue pour les analyses.

- **Taux de salinité**

La salinité du milieu influence l'extraction des pesticides par la fibre SPME, mais la raison pour cet effet est contestée (Magdic et Pawliszyn, 1996 ; Lopez-Avila et al., 1997 ; Hernandez et al., 2000). L'explication la plus probable est que l'ajout de sel renforce la force ionique de la solution, ce qui augmente l'effet de « salting-out » en déplaçant l'équilibre de partage vers la fibre SPME. Le taux de saturation a été varié de 0 à 100 % en saturation de la phase aqueuse, où 100 % représente la limite de solubilité du NaCl dans l'eau, soit 360 g/L. Les résultats sont donnés dans la figure III.3 (page 107).

La réponse analytique a varié fortement avec les différents ajouts de sel, mais aucune corrélation n'a pu être établie entre la salinité du milieu et le rendement d'extraction, ce qui confirme les observations de Jinno et al. (1996). Dès l'ajout de 2 % de sel, la réponse

analytique a été considérablement améliorée. Les ajouts de sel supplémentaires n'ont plus influencé le résultat de manière significative. Vu que l'ajout de sel dans la solution raccourcit considérablement la durée de vie d'une fibre SPME (Hernandez et al., 2000), et ceci d'autant plus que la salinité est élevée, il a été décidé de travailler avec une salinité de 2 % dans la phase aqueuse.

- Synthèse des conditions d'extraction

Vu les essais d'optimisation du protocole d'extraction par SPME décrites ci-dessus, il a été décidé de préconcentrer les pesticides sur une fibre PDMS/DVB en mode immersion directe, de travailler avec une salinité de la solution de 2 % dans la phase aqueuse, de chauffer le mélange à 45 °C et d'arrêter l'extraction après 40 minutes.

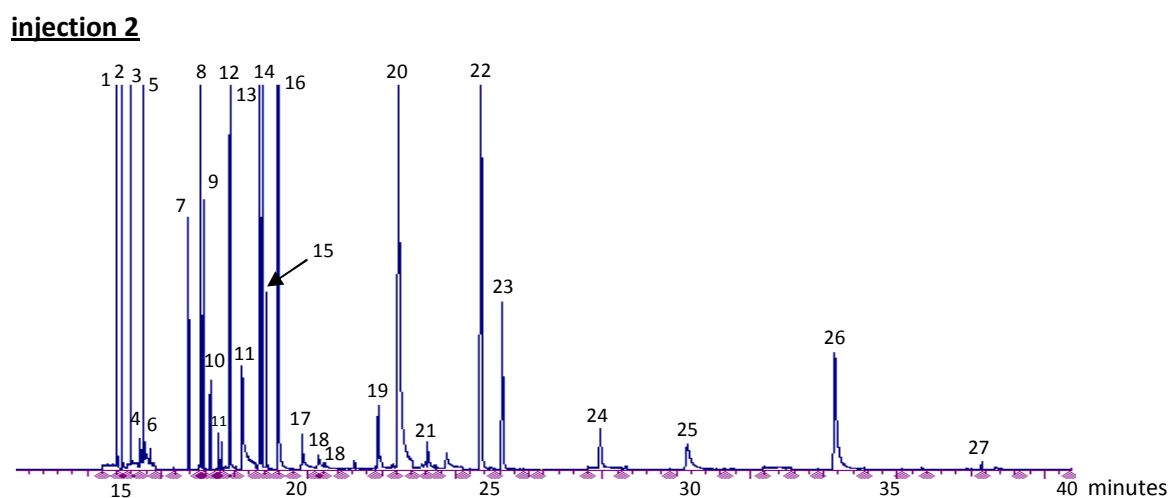
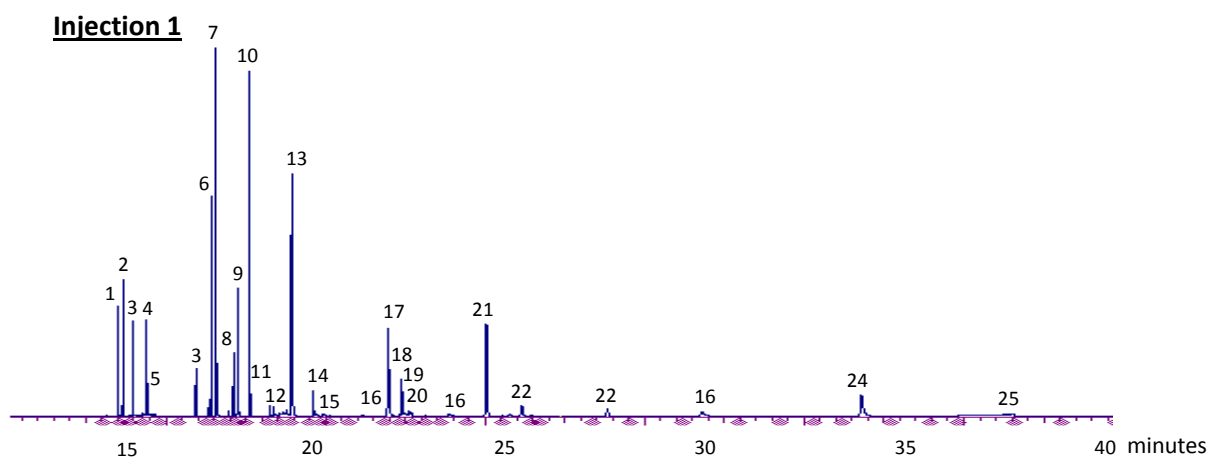
### **III.1.2.2. Analyse par CPG-SM/SM**

La séparation des molécules a été faite avec un chromatographe Varian Star 3400 CX équipé d'un injecteur split/splitless (splitless de 3 minutes) couplé à une trappe d'ions Varian Saturn 4D. Le gaz vecteur était l'hélium avec un débit constant de 1 mL/min et la séparation des analytes a été faite avec une colonne capillaire semi-polaire VF-50MS (50 % phényl – 50 % méthylsiloxane) aux dimensions 60 m × 0,25 mm × 0,25 µm. La température de l'injecteur et de la ligne de transfert ont été maintenues à 280 °C et 300 °C respectivement, et celle de la trappe à 200 °C. La séparation des pesticides a été faite avec le programme de température suivant : 50 °C en isotherme pendant 5 min., augmentation à 25 °C/min. jusqu'à 250 °C, augmentation à 3 °C/min. jusqu'à 302 °C, isotherme pendant 0,5 min., augmentation à 3 °C/min. jusqu'à 310 °C, isotherme pendant 6,5 min. La durée totale du programme de température a été de 40 minutes. La fibre SPME utilisée pour la préconcentration des pesticides (voir § III.1.2.1. page 103) a été désorbée pendant 15 minutes dans la chambre d'injection.

Remarque : Certains pesticides ont des propriétés physico-chimiques trop voisines pour les séparer de façon satisfaisante et le logiciel pilotant l'analyse SM ne permet que d'identifier un certain nombre de pesticides simultanément. Ainsi, il a été décidé d'analyser

l'ensemble des pesticides en deux injections distinctes utilisant le même programme de température. Une extraction SPME ne prélevant que de très faibles quantités d'analytes de l'échantillon, la concentration initiale reste quasiment inchangée et une deuxième extraction peut être faite sur un même échantillon. Les chromatogrammes des deux injections sont présentés dans la figure III.4.





**Figure III.4:** Chromatogrammes des deux injections en CPG. **Injection 1** : 1: Clofentézine 2: Tecnazène (standard interne) 3: Spiroxamine 4: Clomazone 5: Vinchlorzoline 6: Chlorothalonil 7: Dimethachlore 8: Metalaxyl-M 9: S-Metolachlore 10: Ethofumesate 11: Zoxamide 12: Procymidon 13: Penconazole 14: Cyprodinyl 15: Flusilazole 16: Dinocap 17: Kresoxim-méthyl 18: Diflufénicanil 19: Bifenthrine 20: Tébuconazole 21: Tébufenpyrad 22: Epoxiconazole 23: Fénoxycarbe 24: Azoxystrobine 25: Pyraclostrobine. **Injection 2** : 1: Dichlorvos 2: Tecnazène (standard interne) 3: Bupirimate 4: Fenpropidine 5: Pyriméthanyl 6: Acétochlore 7: Alachlore 8: Bénoxacor 9: Tétraconazole 10: Pendiméthaline 11: Triadimenol 12: Trifluraline 13: Tolyfluanide 14: Myclobutanil 15: Captane 16: Mepanipyrim 17: Folpel 18: Cyproconazole 19: Trifloxystrobine 20: Dichlofop methyl 21: Aclonifen 22: Fenpropathrine 23: Lenacile 24: λ-Cyhalothrine 25: Benfuracarbe 26: Fénarimol 27: Deltamethrine

L'identification des pics en spectrométrie de masse en tandem (trappe d'ions) a également nécessité l'optimisation de plusieurs paramètres à savoir le choix de l'ion parent, la tension de collision et l'identification des ions fils. Les paramètres de l'analyse SM/SM sont donnés dans le tableau III.1.

**Tableau III.1 :** Paramètres de l'analyse SM/SM des pesticides. Les ions fils écrits en gras ont été utilisés pour la quantification. M<sub>m</sub> = masse moléculaire ; I<sub>p</sub> = ion parent ; CID = courant de dissociation

Composé	M <sub>m</sub> (g/mol)	t <sub>r</sub> (min.)	Ions majoritaires (m/z)	I <sub>p</sub> (m/z)	Ions fils (m/z)	CID (V)
<b>Fongicides</b>						
Azoxystrobine	403	34,16	345; 387; 51; 63; 75	387	<b>360</b> ; 328; 387; 345; 300	93
Bupirimate*	316	15,11	273; 193; 317; 208; 166	273	<b>193</b> ; 138; 273; 109	60
Captane*	300	19,04	79; 149; 107; 51; 95	79	<b>51</b> ; 79; 77; 78; 81	39
Chlorothalonil	265	17,21	266; 62; 86; 109; 124	266	<b>266</b> ; 133; 205; 168	93
Cyproconazole <sup>1,*</sup>	293	20,42	222; 139; 82; 125; 111; 292	222	<b>222</b> ; 82; 125	59
Cyprodinil	225	19,15	224; 51; 65; 77; 91	224	<b>208</b> ; 224; 183; 198	70
Dinocap <sup>2</sup>	364	20,04	69; 89; 117; 147; 177	69	<b>69</b> ; 68; 67	28
Epoxiconazole	329	25,13	192; 138; 165; 75; 206	192	<b>157</b> ; 165; 138; 192; 130	50
Fénarimol*	331	28,27	139; 107; 251	139	<b>139</b> ; 111; 75	44
Fenpropidine*	273	15,27	98; 273; 55; 70; 117	98	<b>70</b> ; 98; 96	32
Flusilazole	315	19,62	315; 233; 152; 165; 206	233	<b>152</b> ; 165; 220; 233	74
Folpel*	295	19,91	260; 130; 104; 50; 76;	260	<b>232</b> ; 130; 260; 200	64
Kresoxim méthyl	313	21,77	206; 116; 131; 51; 77	206	<b>132</b> ; 206; 116	40
Mepanipyrim*	223	19,26	222; 225; 207	222	<b>220</b> ; 207; 206; 221; 193	75
Metalaxyl-M	279	17,65	160; 280; 146; 132; 192	160	<b>130</b> ; 144; 117; 91; 105; 160	48
Myclobutanil*	274	18,96	179 ; 202 ; 156 ; 139	179	<b>125</b> ; 93 ; 143 ; 179	51
Penconazole	284	18,94	248; 159; 55; 75; 102	248	<b>192</b> ; 206; 157; 170; 248	70
Procymidon	284	18,11	255 ; 96 ; 176 ; 284	255	<b>96</b> ; 176 ; 255	53
Pyracllostrobine	387	37,89	132; 77; 325; 51; 111	132	<b>77</b> ; 104; 132	43
Pyriméthanil*	199	15,48	198; 199	198	<b>155</b> ; 200; 129; 182; 102	79
Spiroxamine <sup>3</sup>	307,9	15,02	100; 72; 126; 58; 84	100	77; <b>100</b>	28
Tébuconazole	297	22,31	250; 125; 70; 57; 82	250	<b>125</b> ; 163; 153; 250	66
Tétraconazole*	371	17,51	336; 51; 82; 101; 125	336	218; <b>336</b> ; 191; 183	99
Tolyfluanide*	347	18,88	137; 181; 238; 92; 346	137	<b>137</b> ; 136; 122; 110; 97; 93	40
Triadimenol <sup>4,*</sup>	296	17,71	70; 112; 168; 128; 57	112	<b>112</b> ; 84; 58; 70; 57; 85	31
Trifloxystrobine*	307	22,41	116; 131; 186; 206; 222	131	<b>130</b> ; 131; 103	41
Vinchlozoline	286	15,19	212; 178; 198; 285; 53	212	<b>212</b> ; 172; 177; 145	60
Zoxamide	337	18,25	242; 187; 186	242	<b>204</b> ; 98 ; 112	60
<b>Herbicides</b>						
Acétochlore*	269	15,53	224; 146; 174; 132; 117	224	<b>146</b> ; 206; 132; 148; 188; 224	58
Aclonifen*	264	23,56	264; 51; 77; 183; 212	183	154; 127; <b>183</b>	61
Alachlore*	269	16,22	238; 188; 160; 238; 146	188	<b>160</b> ; 132; 188; 146	49
Bénoxacor*	260	17,43	120; 259; 176; 134; 148	176	120; 148; <b>176</b>	40
Clomazone	240	15,15	204; 125; 50; 63; 75	204	77; <b>79</b> ; 107; 91	67
Diclofop méthyl*	341	22,73	129 ; 208 ; 340	340	<b>253</b> ; 162 ; 114	23
Diflufénicanil	394	21,81	266; 394; 101; 246; 50	266	218; <b>238</b> ; 190; 246; 183	91
Diméthachlore	255	17,30	134; 197; 210	134	<b>105</b> ; 134; 79; 91; 118	41
Ethofumesate	286	18,19	207; 161; 241; 286; 105	161	<b>105</b> ; 115; 161; 133; 91	44
Lenacile*	234	25,11	153; 235; 53; 67; 80	153	80; 65; 82; <b>136</b> ; 110	50
S-Metolachlore	283	17,81	162; 238; 51; 65; 77	162	<b>132</b> ; 117; 179	49
Pendiméthaline*	281	17,64	252; 51; 65; 77; 91	252	<b>248</b> ; 162; 208; 191; 220	55

Trifluraline	335	18,32	306; 213; 102; 335	306	102; <b>167</b> ; 93; 306	49
<b><u>Insecticides</u></b>						
Benfuracarbe*	410	29,97	190; 144; 102; 90; 55	144	<b>102</b> ; 101; 74; 117; 145; 58	38
Bifenthrine	422	21,81	181; 165; 152; 51; 77	181	<b>165</b> ; 166; 181; 153	51
Clofentezine	303	14,68	137; 102; 75; 56	137	<b>137</b> ; 102; 110; 75	42
λ-Cyhalothrine*	449	27,51	181; 197; 141; 208; 225	197	<b>141</b> ; 161; 197	52
Deltamethrine*	505	37,53	181; 253; 91; 51; 77	253	<b>172</b> ; 174; 91; 253	58
Dichlorvos*	221	14,78	109; 185; 79; 221	185	<b>185</b> ; 93	24
Fénoxycarbe	301	27,42	116; 88; 186; 51; 63	116	88; <b>116</b> ; 115	29
Fenpropathrine*	349	24,30	181; 55; 97; 265; 125	181	<b>152</b> ; 153; 125; 181	62
Tébufenpyrad	334	24,62	276; 171; 318; 333; 131	276	<b>171</b> ; 233; 276	60
<b><u>standard interne</u></b>						
Tecnazène	259	14,89	203; 261; 108; 178; 215	203	<b>203</b> ; 143; 85	67

<sup>1</sup> isomères détectés à 20,42 min. et 20,69 min.

<sup>2</sup> isomères détectés à 20,04 min., 22,53 min., 24,14 min. et 29,83 min.

<sup>3</sup> isomères détectés à 15,02 min. et 16,72 min.

<sup>4</sup> isomères détectés à 17,71 min. et 18,42 min.

\* Pesticide analysé lors de la deuxième injection. Le Tecnazène a été analysé lors des deux injections

### III.1.3. Validation de la méthode d'analyse

Pour les essais de calibration et de validation, des capteurs blancs, c'est-à-dire des capteurs avec un taux de pesticides en-dessous de la limite de détection, ont été dopés avec des standards de pesticides. Ces capteurs ont été extraits comme décrit précédemment (§ II.1.1.4.1. page 50). La calibration de la méthode d'analyse a été faite pour 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 et 1000 ng/capteur. Les extraits obtenus après l'extraction ont été dopés avec 500 ng de Tecnazène, un pesticide qui n'est pas détecté dans l'atmosphère (Scheyer, 2004) et qui a servi de standard interne. Les limites de détection (LD) ont été fixées comme étant le point de la gamme le plus faible où tous les fragments (m/z) spécifiques d'un composé ont pu être identifiés. Les limites de quantification (LQ) ont été fixées comme étant dix fois le rapport signal/bruit. Les variations intra- et inter-jour et les rendements d'extraction ont été déterminés sur des capteurs « blancs » dopés avec deux quantités de pesticides différentes (200 et 800 ng/capteur). Tous les essais ont été réalisés en triplicata. Les paramètres de la validation sont présentés dans le tableau III.2.

**Tableau III.2 :** Paramètres de validation de la méthode d'analyse : coefficient de corrélation ( $R^2$ ), CV intra- et inter-jour, LD, LQ et rendement d'extraction

Composé	$R^2$	CV intra-jour		CV inter-jour		LD ng/capteur	LQ	rendement d'extraction	
		200 ng	800 ng	200 ng	800 ng			200 ng	800 ng
<b>Fongicides</b>									
Azoxystrobine	0,986	11,3 %	6,7 %	13,2 %	10,4 %	25	106	31,6 %	52,7 %
Bupirimate	0,987	9,4 %	4,3 %	11,4 %	6,4 %	25	153	48,9 %	67,6 %
Captane	0,999	13,2 %	9,5 %	15,5 %	6,6 %	50	243	55,2 %	75,5 %
Chlorothalonil	0,996	8,5 %	3,6 %	11,2 %	7,3 %	10	90	75,3 %	68,0 %
Cyproconazole	0,999	5,6 %	6,3 %	8,3 %	5,9 %	50	137	51,3 %	49,4 %
Cyprodinil	0,964	5,9 %	4,5 %	6,3 %	3,4 %	25	73	104,9 %	83,0 %
Dinocap	0,993	13,8 %	15,2 %	14,7 %	10,3 %	50	283	94,0 %	101,3 %
Epoxiconazole	0,999	9,9 %	7,5 %	8,4 %	7,3 %	25	123	88,2 %	87,9 %
Fénarimol	0,996	7,6 %	2,3 %	9,2 %	4,9 %	25	87	38,7 %	59,3 %
Fenpropidine	0,984	8,6 %	6,3 %	12,1 %	10,7 %	25	127	66,4 %	72,1 %
Flusilazole	0,997	10,2 %	9,8 %	14,2 %	13,2 %	25	97	39,7 %	70,4 %
Folpel	0,984	16,3 %	6,7 %	13,8 %	9,4 %	100	307	46,1 %	56,0 %
Kresoxim méthyl	0,995	5,7 %	3,4 %	7,9 %	4,3 %	50	243	54,3 %	97,2 %
Mepanipyrim	0,997	8,5 %	5,3 %	10,3 %	9,7 %	50	203	43,6 %	63,7 %
Metalaxyl-M	0,996	12,4 %	10,7 %	15,3 %	11,8 %	100	267	76,8 %	65,4 %
Myclobutanil	0,979	7,5 %	4,5 %	6,9 %	5,2 %	25	100	64,5 %	80,7 %
Penconazole	0,984	9,4 %	7,8 %	11,3 %	6,9 %	25	113	66,9 %	63,5 %
Procymidon	0,987	11,2 %	10,2 %	14,9 %	11,5 %	25	121	62,3 %	60,1 %
Pyraclostrobin	0,991	13,4 %	12,1 %	15,8 %	11,3 %	50	170	60,3 %	80,9 %
Pyriméthanol	0,993	6,3 %	3,8 %	7,7 %	4,5 %	25	67	65,4 %	72,3 %
Spiroxamine	0,994	8,3 %	9,2 %	11,7 %	12,1 %	25	120	60,6 %	66,8 %
Tébuconazole	0,989	12,1 %	11,1 %	10,8 %	8,4 %	25	137	74,5 %	86,2 %
Tétraconazole	0,997	7,5 %	4,8 %	9,7 %	7,2 %	50	167	30,2 %	44,2 %
Tolyfluanide	0,992	11,0 %	9,2 %	14,7 %	11,9 %	50	130	30,8 %	48,8 %
Triadimenol	0,989	8,5 %	4,8 %	10,6 %	6,7 %	50	153	60,8 %	101,4 %
Trifloxystrobine	0,994	9,3 %	7,3 %	11,3 %	10,1 %	25	80	79,6 %	83,4 %
Vinchlozoline	0,979	4,6 %	2,2 %	6,8 %	7,2 %	10	63	70,1 %	63,2 %
Zoxamide	0,983	6,7 %	5,8 %	8,8 %	5,7 %	25	73	83,7 %	92,9 %
<b>Herbicides</b>									
Acétochlore	0,99	7,4 %	5,6 %	7,5 %	5,9 %	25	123	58,7 %	78,2 %
Aclonifen	0,989	8,9 %	7,1 %	12,4 %	11,3 %	25	153	45,8 %	108,3 %
Alachlore	0,995	12,1 %	10,6 %	15,8 %	13,4 %	50	140	40,8 %	41,4 %
Bénoxacor	0,979	16,2 %	11,5 %	14,3 %	9,6 %	50	210	87,0 %	98,9 %
Clomazone	0,986	11,5 %	10,8 %	13,4 %	11,7 %	50	170	82,9 %	76,5 %
Diclofop méthyl	0,996	10,0 %	5,8 %	7,8 %	7,4 %	50	147	97,3 %	65,6 %
Diflufénicanil	0,987	5,2 %	4,3 %	8,3 %	7,4 %	25	87	55,3 %	75,2 %
Diméthachlore	0,993	8,3 %	8,1 %	9,2 %	7,6 %	25	97	58,2 %	63,7 %
Ethofumesate	0,991	7,7 %	5,2 %	9,2 %	10,3 %	25	103	82,7 %	91,8 %
Lenacile	0,989	12,4 %	10,3 %	15,7 %	12,5 %	50	237	65,4 %	73,7 %
S-Metolachlore	0,993	7,9 %	4,1 %	8,7 %	7,2 %	25	137	31,6 %	55,4 %
Pendiméthaline	0,979	11,3 %	7,4 %	13,4 %	11,2 %	50	150	84,3 %	90,7 %
Trifluraline	0,991	10,2 %	6,9 %	11,1 %	10,6 %	25	124	72,1 %	85,8 %

<b>Insecticides</b>									
Benfuracarbe	0,978	9,3 %	4,5 %	13,5 %	12,8 %	100	343	65,4 %	71,0 %
Bifenthrine	0,992	10,4 %	6,3 %	8,6 %	9,3 %	50	127	48,7 %	78,3 %
Clofentézine	0,986	13,2 %	12,1 %	11,3 %	8,5 %	50	227	53,6 %	89,7 %
λ-Cyhalothrine	9,987	9,3 %	5,7 %	10,2 %	8,1 %	50	207	42,7 %	55,0 %
Deltamethrine	0,985	16,3 %	11,3 %	12,3 %	10,2 %	50	233	78,2 %	83,4 %
Dichlorvos	0,976	17,2 %	17,4 %	14,0 %	15,9 %	50	203	56,1 %	81,4 %
Fénoxycarbe	0,993	7,5 %	5,2 %	8,3 %	4,8 %	50	190	34,3 %	44,7 %
Fenpropathrine	0,996	9,3 %	6,8 %	12,1 %	7,6 %	50	130	76,9 %	83,7 %
Tébufenpyrad	0,992	5,4 %	3,5 %	8,1 %	5,9 %	50	140	80,7 %	88,2 %

Les coefficients de corrélation ont tous été supérieurs à 0,97 et sont donc légèrement plus bas que ceux calculés pour les droites de calibration des HAPs et OH-HAPs dans le chapitre II. Ceci est majoritairement dû au fait que l'optimisation des conditions d'opération de l'extraction SPME repose sur des compromis pour la majorité des pesticides. Pourtant, les coefficients de corrélation sont assez élevés pour confirmer la linéarité des droites de calibration sur tout le domaine. Les coefficients de variation intra- et inter-jour varient entre 2,2 % (Vinchlozoline) et 17,4 % (Dichlorvos) et entre 3,4 % (Cyprodinil) et 15,9 % (Dichlorvos), respectivement. De même à ce qui a été noté dans le chapitre II, ces valeurs ne peuvent pas être comparées à celles d'autres études du fait que les trois seules études ayant analysé des pesticides à l'aide de capteurs XAD-2 (Wania et al., 2003 ; Hayward et al., 2010 ; Wang et al., 2010) ne donnent pas suffisamment d'informations sur la répétabilité de leurs méthodes d'analyse.

Les limites de détection ont varié entre 10 ng/capteur (Chlorothalonil, Vinchlozoline) et 100 ng/capteur (Folpel, Metalaxyl-M, Benfuracarbe), et les limites de quantification ont varié entre 63 ng/capteur (Vinchlozoline) et 343 ng/capteur (Benfuracarbe). Ces valeurs sont difficilement comparables à celles d'autres études puisque Wania et al. (2003), Hayward et al. (2010) et Wang et al. (2010) n'ont pas informé sur la sensibilité de leurs méthodes. Pourtant, Hayward et al. ont mesuré des concentrations en Trifluraline comprises entre 0,6 et 2,7 ng/capteur, ce qui est largement en-dessous de la limite de quantification de ce pesticide dans la présente étude (25 ng/capteur). Leur méthode semble donc être plus sensible que la nôtre, mais ils n'ont analysé que 9 pesticides, contrairement aux 50 pesticides recherchés ici. La raison de la sensibilité apparemment meilleure de Hayward et al. (2010) peut être qu'ils ont analysé les pesticides par CPG couplée à un détecteur à capture d'électrons qui est plus sensible qu'un spectromètre de masse opéré en mode

impact électronique, mais n'aurait pas permis d'analyser tous les 50 pesticides recherchés (Schummer et al., 2010a). Le fait que les capteurs de Hayward et al. (2010) ont contenu moins de résine que ceux utilisés ici (20 g contre 26 g) ne peut guère être en cause pour cette différence de sensibilité, vu que le rendement d'extraction de la Trifluraline est, avec 72,1 et 85,8 % (voir tableau III.2), relativement élevé dans la présente étude. Gouin et al. (2008) ont donné les LQs de leur méthode, mais uniquement en  $\text{ng}/\text{m}^3$  air (0,006 – 0,013  $\text{ng}/\text{m}^3$ ). En utilisant le flux d'air de 1  $\text{m}^3/\text{capteur}/\text{jour}$  estimé par Wania et al. (2003), les LQs de cette étude varieraient, pour des prélèvements d'une durée d'un mois (30 jours), entre 2,1  $\text{ng}/\text{m}^3$  et 11,4  $\text{ng}/\text{m}^3$ , et seraient d'un facteur 1000 plus élevées que celles de Gouin et al. (2008). Même si ces valeurs ne sont que difficilement comparables, d'autant plus que Gouin et al. ont utilisé des capteurs passifs à base de disques en mousse de polyuréthane, il semble que leur méthode soit, elle-aussi, plus sensible que celle développée ici, mais, encore une fois, ils ont analysé un nombre beaucoup plus restreint de pesticides (10 composés différents).

Les rendements d'extraction ont varié entre 30,2 % (Tétraconazole) et 108,3 % (Aclonifen). Pour certains pesticides, les rendements d'extraction ont donc été relativement faibles, mais en général ils ont été dans un ordre de grandeur comparable à celui d'autres études ayant mesuré des rendements aux alentours de 60 % pour les pesticides organochlorés (Wania et al., 2003) ou compris entre 62 % et 119 % (Hayward et al., 2010). Dans ces deux études, l'extraction a été faite avec un solvant moins polaire (hexane ou dichlorométhane) au Soxhlet. Ces solvants auraient peut-être permis d'augmenter les rendements d'extraction, mais, vu qu'ils ne sont pas miscibles à l'eau, une préconcentration par SPME n'aurait pas été possible. Les faibles rendements d'extraction observés pour certains pesticides peuvent être expliqués soit par une non-extraction de la résine, soit par des pertes pendant la concentration de l'extrait ASE à l'évaporateur rotatif. Il a ainsi été vérifié si les pesticides éventuellement non-extraits de la résine peuvent induire des surestimations des concentrations, et des capteurs dopés avec des pesticides ont été extraits une deuxième et une troisième fois. Aucun pesticide n'a été détecté dans ces extraits. Les pesticides à faible rendement d'extraction se sont donc fixés définitivement sur la résine ou ont été perdus pendant l'étape de concentration de l'extrait.

### **III.1.4. Dosage des pesticides dans les extraits des capteurs**

Les capteurs ont été extraits, concentrés et analysés comme décrit ci-dessus (voir § III.1.2. page 103). Les échantillons dont la concentration d'un composé a dépassé le domaine de linéarité de la gamme ont été dilués au dixième ou au centième et analysés une deuxième fois. Les résultats sont présentés dans le tableau III.3.

**Tableau III.3:** Quantités de pesticides mesurées sur les capteurs (en ng/capteur) et fréquence de détection (F.D.) aux différents sites

composé	Bissen	F.D.	Remich	Luxembourg 1		Luxembourg 2		Schiffange	F.D.
				F.D.		F.D.			
Aclonifen	<LQ	1/11	<LQ	1/10	-	-	-	-	-
Benoxacor	-	-	-	-	-	310	-	-	1/7
Bifenthrine	<LQ – 2590	2/11	-	-	130	-	-	-	-
Captane	24320	1/11	8320	1/10	-	-	-	-	-
Chlorothalonil	1140	1/11	-	-	<LQ	8790	1/7	2150	1/7
Clofentezin	-	-	<LQ	1/10	-	-	-	-	-
Clomazone	-	-	<LQ	1/10	-	-	-	-	-
Cyprodinil	<LQ – 140	4/11	<LQ – 280	2/10	<LQ	-	-	-	-
Diflufenicanil	2400	1/11	-	-	<LQ – 1100	-	-	-	-
Diméthachlore	<LQ	3/11	<LQ	1/10	<LQ	<LQ	1/7	-	-
Dinocap	14410	1/11	17500-28900	1/10	42100	-	-	-	-
Ethofumesate	150 – 190	2/11	<LQ – 1350	3/10	-	-	-	-	-
Fénarimol	<LQ	5/11	<LQ	6/10	<LQ	<LQ	1/7	<LQ	1/7
Fénoxycarbe	5990	1/11	-	-	-	-	-	-	-
Fenpropiidine	<LQ	1/11	<LQ	3/10	<LQ	-	-	-	-
Flusilazole	100	1/11	-	-	-	-	-	-	-
S-Métolachlore	<LQ	1/11	-	-	-	-	-	-	-
Spiroxamine	-	-	-	-	<LQ	-	1/11	-	-
Tébufenpyrad	6460	1/11	-	-	-	-	-	-	-
Trifloxystrobine	350	1/11	<LQ – 1270	2/10	<LQ – 370	<LQ	1/7	1380	1/7
Vinchloroline	120	1/11	<LQ	1/10	<LQ	-	-	-	-
Zoxamide	<LQ – 2300	3/11	<LQ	1/10	<LQ	-	-	-	-



Parmi les 50 pesticides qui ont été recherchés sur les capteurs, 22 ont été détectés au moins une fois. Pour 8 de ces pesticides (Aclonifen, Clofentezine, Clomazone, Diméthachlore, Fénarimol, Fenpropidine, S-Metolachlore et Spiroxamine), la concentration n'a jamais dépassé la limite de quantification. Les concentrations ont varié entre 100 (Flusilazole) et 42 100 (Dinocap) ng/capteur. Ces valeurs sont légèrement plus élevées que celles mesurées pour les HAPs sur les capteurs, mais restent dans le même ordre de grandeur. A titre d'interprétation de ces valeurs, on peut les comparer à celles mesurées dans l'étude de Hayward et al. (2010) qui ont analysé des pesticides organochlorés et quelques autres pesticides, dont la Trifluraline et le Chlorothalonil, avec des capteurs passifs à base de résine XAD-2. Ils ont mesuré des concentrations de Trifluraline variant entre 0,6 et 2,7 ng/capteur et de Chlorothalonil variant entre 4,5 et 400 ng/capteur. La Trifluraline a aussi été recherchée dans la présente étude, mais n'y a jamais été détectée. Pourtant, comme cela a été indiqué ci-dessus, les valeurs rapportées par Hayward et al. ont été plus faibles que la limite de détection obtenue dans cette étude-ci pour ce pesticide (25 ng/capteur). L'explication pour cette non-détection de la Trifluraline pourrait donc être une sensibilité insuffisante de la méthode d'analyse. Cet herbicide a été interdit le 31 décembre 2008 et il était donc sur le marché pendant la première partie de la campagne d'échantillonnage. Pourtant les agriculteurs ont été en train de changer leurs habitudes d'épandage en vue de l'interdiction à venir de ce pesticide, et l'utilisation de la Trifluraline a déjà été significativement réduite en 2008. Les concentrations de Chlorothalonil mesurées dans cette étude ont varié entre 1140 et 8790 ng/capteur, ce qui est un peu plus élevé que les valeurs mesurées par Hayward et al. Il est toutefois difficile de comparer ces concentrations puisque Hayward et al. (2010) les ont mesurées en Ontario (Canada) où les traitements de pesticides n'ont pas forcément été identiques.

Une autre observation issue de l'analyse du tableau III.3 est que la fréquence de détection de beaucoup de pesticides a été très faible (une seule détection par site pour beaucoup de composés). Dans l'étude de Hayward et al. (2010), ces fréquences ont été sensiblement plus élevées avec des valeurs de 100 % pour la majorité des composés, dont l'Alachlore ou la Trifluraline recherchés mais non-détectés dans la présente étude, ou le Metolachlore détecté une seule fois. Plusieurs explications peuvent être avancées concernant cette observation :

1. Les pesticides ont été absents dans l'air pendant les périodes de prélèvement ou à des quantités insuffisantes pour les détecter, vu que les résultats présentés ci-dessus suggèrent que la sensibilité de la méthode utilisée soit moins bonne que celle des méthodes publiées antérieurement.
2. Les pesticides ont été présents dans l'atmosphère lors des échantillonnages, mais ne se sont pas fixés sur les capteurs. Il a été montré par Dobson et al. (2006) que les pesticides se fixent sur la résine XAD-2 lors de prélèvements à grand volume où l'air est aspiré avec des pompes puissantes, mais il n'y a actuellement pas de données sur leur adsorption sur cette résine suite à un flux d'air non-forcé.
3. Les pesticides ont été adsorbés sur les capteurs et se sont dégradés dans la suite. Les pesticides analysés dans cette étude sont, avec des temps de demi-vie de certains pesticides de quelques jours (p.ex. 3 jours pour le Captane, 15 jours pour l'Alachlore, 30 jours pour le Chlorothalonil) (Deer, 2004), moins stables que les pesticides organochlorés qui ont été analysés dans les autres études. Pourtant, le Chlorothalonil a été détecté à des concentrations élevées sur des capteurs exposés pendant toute une année (Hayward et al., 2010), ce qui rend cette hypothèse moins probable.
4. Les pesticides se sont désorbés du capteur durant la période d'exposition. Les observations faites pendant l'analyse des HAPs sur les capteurs suggèrent la possibilité que les molécules ne s'accumulent pas sur les capteurs mais établissent un équilibre de partage entre le capteur et l'atmosphère. Si les pesticides analysés dans cette étude se partagent également entre l'air et la résine comme cela a été envisagé pour les HAPs (voir II.1.2.3.2. page 63), une diminution de la concentration des pesticides dans l'air ambiant a pu entraîner une désorption des pesticides des capteurs. Pourtant, les résultats de Hayward et al. (2010) (voir point 3. ci-dessus) parlent plutôt pour l'accumulation des pesticides sur les capteurs.

Plusieurs autres explications sont possibles quant aux faibles fréquences de détection, mais, avec les informations disponibles actuellement, il n'est pas encore possible de trancher sur cette question. Ceci montre qu'il y a encore beaucoup d'inconnues sur les mécanismes d'adsorption des pesticides sur les capteurs passifs, ce qui complique une interprétation raisonnable des concentrations mesurées sur les capteurs à l'heure actuelle.

### III.1.4.1. Variations en fonction du site de prélèvement

Les variations des concentrations atmosphériques des pesticides en fonction du site de prélèvement ont été étudiées en comparant les concentrations moyennes annuelles entre les cinq sites (tableau III.4).

**Tableau III.4 :** Quantités annuelles moyennes ( $\pm$  écart-type), par site et par composé en ng/capteur et valeur P des comparaisons des moyennes. (\* indique qu'il n'y avait pas assez de valeurs pour pouvoir calculer la valeur P)

	Bissen	Remich	Luxembourg 1	Luxembourg 2	Schifflange	valeur P
Bifenthrine	2592	-	-	-	-	*
Captane	24321	8324	-	-	-	0,623
Chlorothalonil	1145	1142	-	8794	2157	0,392
Cyprodinil	149	287	-	-	-	0,534
Diflufénicanil	2406	-	1102	-	-	0,864
Dinocap	14410	28916	41257	-	-	0,368
Ethofumesate	170 $\pm$ 21	-	-	-	-	*
Fénoxycarbe	5994	-	-	-	-	*
Flusilazole	98	-	-	-	-	*
Tébufenpyrad	6461	-	-	-	-	*
Trifloxystrobine	357	56	373	-	-	0,368
Vinchlozoline	120	-	-	-	-	*
Zoxamide	2303	-	-	-	-	*

Les valeurs P calculées pour le Chlorothalonil, le Dinocap et la Trifloxystrobine indiquent que les différences inter-site n'étaient pas suffisamment élevées pour pouvoir exclure la possibilité que les écarts dans les concentrations moyennes sur les sites soient dus à un échantillonnage au hasard. Des variations spatiales statistiquement significatives n'ont donc pas été observées. Pourtant, pour tous les pesticides à l'exception de l'Ethofumesate, il n'y avait qu'une seule détection > LQ par an et par site. Les moyennes annuelles y relatives sont donc basées sur une seule concentration.

Quelques différences peuvent quand même être observées en analysant le tableau III.4 ci-dessus. Ainsi, 13 pesticides ont été détectés à des concentrations > LQ sur le site Bissen et 5 sur le site Remich, contre 3 sur le site Luxembourg 1 et 1 sur les sites Luxembourg 2 et Schifflange. Sur les deux sites ruraux, il y a donc eu plus de détections de pesticides que sur les sites urbains et semi-urbains. Ceci est en accord avec des observations récentes où il a été constaté que les pesticides actuellement utilisés sont fortement délimités à leurs zones

d'émission parce qu'ils ont plus tendance à s'adsorber sur les particules, ce qui limite leur transport aérien (Schummer et al., 2010b).

### III.1.4.2. Variations en fonction du temps

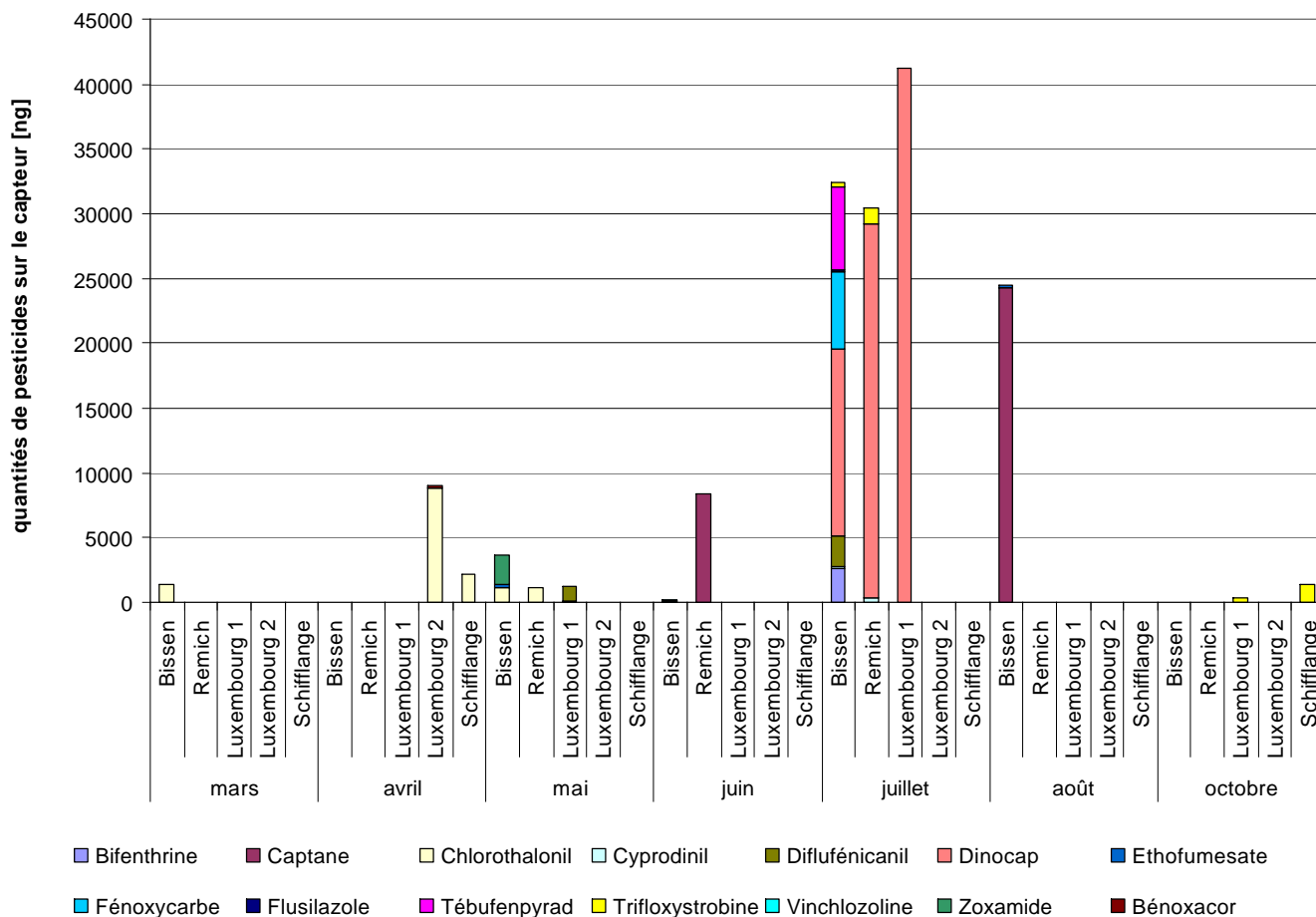
Les variations des concentrations atmosphériques des pesticides en fonction du temps ont été étudiées en comparant les moyennes des concentrations mensuelles pour chaque site séparément et pour tous les sites confondus (tableau III.5).

**Tableau III.5 :** Concentrations de pesticides mensuelles moyennes ( $\pm$  écart-type) en ng/capteur, par site et pour les cinq sites confondus, et valeurs P des comparaisons des moyennes (\* indique qu'il n'y avait pas assez de valeurs pour pouvoir calculer la valeur P)

	mars	avril	mai	juin	juillet	août	octobre	valeur P
Bissen	1350	-	1211 $\pm$ 21	105 $\pm$ 21	4056 $\pm$ 21	12239 $\pm$ 21	-	0,406
Remich	-	-	1140	4162 $\pm$ 21	10152 $\pm$ 21	-	56	0,392
Luxembourg 1	-	-	615 $\pm$ 21	-	41200	-	373	0,368
Luxembourg 2	-	4550 $\pm$ 21	-	-	-	-	-	*
Schiffange	-	2150	-	-	-	-	1380	0,639
5 sites ensemble	1350	3750 $\pm$ 21	1000 $\pm$ 21	2133 $\pm$ 21	8675 $\pm$ 21	12239 $\pm$ 21	603 $\pm$ 21	0,423

Les valeurs P calculées pour les sites de Bissen, Remich, Luxembourg 1 et Schiffange n'ont pas permis d'observer des variations temporelles statistiquement significatives. Pour le site de Luxembourg 2, il y a eu trop peu de valeurs pour faire des calculs statistiques. Dans ce contexte il faut avouer que le fait de faire des moyennes mensuelles avec tous les pesticides est hasardeux, comme les pesticides ont des masses moléculaires différentes, ce qui a également pu avoir des influences sur les calculs statistiques. Malheureusement, il n'a pas été possible de calculer des concentrations mensuelles pour tous les pesticides, comme les fréquences de détection ont été trop faibles pour la plupart des composés.

Des variations en fonction du temps statistiquement significatives n'ont pas été identifiées avec les calculs statistiques, mais le fait qu'aucun pesticide n'a été détecté entre novembre et février suggère quand même l'existence de variations en fonction du temps. Ainsi, il a été envisagé d'étudier les variations temporelles en présentant les résultats sous forme graphique (figure III.5) et en étudiant les pesticides séparément.



**Figure III.5 :** Variations temporelles des concentrations atmosphériques des pesticides sur les cinq sites de prélèvement

L'histogramme de la figure III.5 indique que les quantités de pesticides augmentent de mars à juillet et diminuent ensuite jusqu'en octobre. Les fréquences de détection des pesticides sont donc en accord avec les applications spécifiques sur les cultures. Ainsi, le Chlorothalonil a été détecté sur quatre sites différents dans les mois de mars, avril et mai. Ce pesticide est appliqué dans la lutte contre les maladies foliaires qui se développent avant tout en avril et en mai (Syngenta Crop Protection ; <http://www.syngenta.be>). Plus tard, entre mai et juillet, des détections de Diflufénicanil ont été faites sur deux sites. Le Diflufénicanil est un herbicide utilisé pour lutter contre les mauvaises herbes qui se développent avant tout vers la fin du printemps, expliquant les détections de ce pesticide sur les capteurs à ces moments donnés. Ensuite, des concentrations élevées en Captane ont été mesurées sur les sites de Bissen et de Remich en juin et en août. Le Captane est un fongicide utilisé pour lutter contre différentes maladies fongiques comme le mildiou. Le mildiou se développe

idéalement à des températures supérieures à 20 °C, donc normalement à partir de fin mai. En juillet, des concentrations très importantes de Dinocap ont été mesurées sur trois sites. Le Dinocap est un fongicide qui est utilisé pour lutter contre des maladies fongiques comme l'oïdium de la vigne, une sorte de mildiou. Il agit au niveau de la respiration cellulaire de l'oïdium en bloquant la germination des spores et la croissance du mycélium. Les applications du Dinocap ont généralement lieu aux stades « 3 feuilles » à véraison (Dow AgroSciences ; <http://www.dowagro.com>), donc une application de ce pesticide en juillet est possible. Finalement, plusieurs détections de Trifloxystrobine ont été faites sur quatre sites entre juillet et octobre. Ce pesticide est utilisé entre autres pour lutter contre la rhizocontia (la maladie du collet et des raisins), une tumeur qui se développe sur les plantes, avant tout sur les vignes, à des températures comprises entre 20 et 32 °C et qui peut causer la mort du plant (Administration de l'Agriculture et de l'Agroalimentaire du Québec ; <http://www4.agr.gc.ca>). Les applications de pesticides contre cette maladie ont lieu vers la fin de la saison, ce qui est en accord avec les périodes où ce pesticide a été détecté sur les capteurs.

Les variations temporelles de certains pesticides à concentrations élevées sont en accord avec les traitements spécifiques ayant lieu au cours d'une saison d'épandage. Ceci suggère qu'il soit possible d'utiliser les capteurs passifs pour détecter des contaminations en pesticides relativement fortes mais limitées dans le temps, notamment les pollutions atmosphériques en pesticides provenant des épandages et dont les concentrations atmosphériques diminuent rapidement après l'application (Schummer et al., 2010a). Dans de futures études il pourra être utile de diminuer les périodes d'exposition des capteurs, comme ceci pourrait augmenter les fréquences de détection des pesticides, ce qui permettrait d'interpréter plus précisément les résultats obtenus. En contrepartie, ceci empêcherait peut-être de détecter les pesticides faiblement concentrés dans l'atmosphère ou ceux dont la cinétique d'adsorption est très lente, nécessitant un temps d'exposition plus long pour que des quantités de pesticides mesurables puissent s'accumuler sur le capteur. Il serait ainsi possible que le temps d'exposition du capteur doive être adapté en fonction de l'objectif de l'étude et en fonction de la cinétique d'adsorption des pesticides analysés. S'il s'agit de localiser des concentrations élevées résultant d'épandages et si les pesticides s'adsorbent rapidement sur le capteur, il est préférable de diminuer le temps d'exposition

pour augmenter la fréquence de détection et améliorer la précision du résultat. S'il s'agit par contre de détecter des pesticides faiblement concentrés dans l'atmosphère ou s'adsorbant lentement sur les capteurs, il faut augmenter le temps d'exposition. Ceci pourrait être le cas si l'on veut déterminer la contamination de l'atmosphère de régions urbaines où il n'y a pas d'applications de pesticides dans les alentours directs et où les pesticides sont généralement moins concentrés. Cependant, avant de faire ces essais, il faut agrandir les connaissances sur les mécanismes d'adsorption des pesticides sur les capteurs et améliorer la sensibilité de la méthode d'analyse.

**Remarque :** De même que pour les analyses des HAPs dans l'air, il a été renoncé à exprimer les concentrations en pesticides mesurées sur les capteurs en fonction du volume d'air, vu que les inconnues sur les mécanismes d'adsorption des pesticides sur les capteurs sont encore trop grandes pour permettre une estimation réaliste du volume d'air.

### III.1.5. Conclusions

Les essais réalisés dans cette étude ont montré que les capteurs passifs à base de résine XAD-2 permettent l'échantillonnage des pesticides agricoles actuellement utilisés. Les résultats de l'étude des variations des concentrations en fonction du site de prélèvement et du temps indiquent que les concentrations atmosphériques des pesticides sont plus élevées au niveau des sites exposés aux émissions de pesticides et suggèrent que la présence des pesticides dans l'air soit essentiellement due aux épandages. En contrepartie, il semble que la méthode développée ici soit moins sensible que celle d'autres études s'étant limitées à un nombre beaucoup plus restreint de pesticides. Pourtant, il est possible que la plus faible sensibilité soit le compromis qu'il faut accepter si l'on veut analyser simultanément un grand nombre de pesticides différents. Néanmoins, il faut essayer d'améliorer la sensibilité de la méthode d'analyse développée dans cette étude, par exemple en faisant les analyses sur un CPG-SM/SM triple quadripôle. Les prochaines études devront être focalisées avant tout sur une meilleure compréhension des mécanismes d'adsorption des pesticides sur les capteurs pour donner une interprétation réaliste des résultats.

## III.2. Détermination des pesticides dans les cheveux

Les objectifs de cette étude ont été de vérifier si les pesticides actuellement utilisés en agriculture s'incorporent dans les cheveux à des quantités mesurables, et de développer un protocole de décontamination des cheveux permettant d'éliminer les influences de la contamination externe sur les résultats. Rappelons que 61 pesticides ont été sélectionnés pour cette étude (voir tableau I.3 page 42), dont les 50 pesticides recherchés précédemment sur les capteurs passifs, et les 11 pesticides organochlorés (o,p'- et p,p'-DDE, o,p'- et p,p'-DDT, Dieldrine,  $\alpha$  et  $\beta$ -Endosulfan, et  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ - et  $\gamma$ -HCH) qui ont été rajoutés à la liste des pesticides recherchés puisque c'est la seule classe de pesticides qui a régulièrement fait l'objet d'analyses dans les cheveux jusqu'à présent. Ceci a permis de mieux comparer la performance de la méthode et d'interpréter les concentrations trouvées. Ensuite, des échantillons de cheveux d'agriculteurs et de viticulteurs ont été analysés pour étudier leur exposition aux pesticides et les variations de celle-ci, et il a été étudié si les analyses de cheveux peuvent informer sur des expositions aux pesticides ayant eu lieu dans le passé.

### III.2.1. Analyse des pesticides

La méthode d'analyse développée pour l'analyse des pesticides dans les extraits des capteurs passifs a été appliquée à des extraits de cheveux dopés en pesticides, mais il a été observé que les limites de détection pour la majorité des pesticides ont été supérieures à 500 pg/mg, ce qui n'est pas compatible avec la majorité des concentrations de pesticides dans les cheveux trouvées dans la littérature (0,1 – 500 pg/mg) (Covaci and Schepens, 2001 ; Zhang et al., 2007 ; Covaci et al., 2008 ; Dulaurent et al., 2008 ; Tsatsakis et al., 2008). Il a donc été décidé de développer une nouvelle méthode d'analyse utilisant un CPG-SM/SM équipé d'un triple quadripôle qui a une meilleure sensibilité que le CPG-SM/SM à trappe d'ions utilisé dans l'étude sur les capteurs passifs. La préconcentration des analytes par SPME avant l'injection a été retenue, vu les bons résultats obtenus dans le cadre de l'analyse des pesticides sur les capteurs passifs (voir § III.1.2. page 103). Cependant, il a fallu adapter les conditions de mise en œuvre de la SPME aux pesticides organochlorés qui ont été rajoutés à la liste des composés recherchés.



### III.2.1.1. Analyse par CPG-SM/SM

Les analyses ont été faites sur un chromatographe Agilent 7890A équipé d'un injecteur split/splitless (splitless de 3 minutes). Le gaz vecteur a été l'hélium avec un débit constant de 1,6 mL/min. et la séparation des analytes a été faite avec une colonne capillaire 5MS (5 % méthyl – 95 % phénylsiloxane) d'Agilent aux dimensions 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm. L'injecteur a été chauffé à 260 °C, la ligne de transfert à 250 °C et la source et les deux analyseurs quadripolaires à 150 °C. L'injection a été faite en mode splitless pulsé après préconcentration des analytes sur une fibre SPME (PDMS/DVB) insérée automatiquement dans le port d'injection du CPG avec un dispositif CTC Combipal. La fibre a été désorbée pendant 15 minutes. La séparation des pesticides a été réalisée avec le programme de température suivant : 70 °C en isotherme pendant 5 min., augmentation à 10 °C/min. jusqu'à 200 °C, augmentation à 2 °C/min. jusqu'à 240 °C, augmentation à 10 °C/min. jusqu'à 300 °C, isotherme pendant 3 min. Après élution du dernier pesticide, le courant d'hélium dans la colonne a été inversé (« backflush ») et envoyé avec un flux de 3 mL/min. sur une durée de 4 minutes en direction de l'injecteur pour évacuer des impuretés qui ne sont pas assez volatiles ou trop polaires pour éluer de la colonne. La durée totale du programme de température a été de 51 minutes.

L'identification des pics a été faite avec un spectromètre de masse Agilent 7000A muni d'un « triple quadripôle », donc de deux analyseurs quadripolaires séparés par une cellule de collision remplie d'azote et d'hélium. Ceci a nécessité l'optimisation préalable de plusieurs paramètres, à savoir le choix des ions parents, la tension de collision et l'identification des ions fils. Les paramètres de l'analyse SM/SM sont donnés dans le tableau III.6 page 127. A titre d'étalonnage interne, 10 pesticides deutérés ont été inclus dans cette liste : Trifluraline-D<sub>14</sub>, α-HCH-D<sub>6</sub>, γ-HCH-D<sub>6</sub>, p,p'-DDE-D<sub>8</sub>, p,p'-DDT-D<sub>8</sub>, Tebuconazole-D<sub>6</sub>, trans-Perméthrine-D<sub>6</sub>, Dichlorvos-D<sub>6</sub>, Folpel-D<sub>4</sub> et β-Endosulfan-D<sub>4</sub>.

**Tableau III.6 :** Paramètres de l'analyse SM/SM des pesticides et des standards deutérés [D<sub>x</sub>, avec x étant le nombre de protons deutérés]

Pesticide	t <sub>r</sub> [min]	masse molaire [g/mol]	ion parent [m/z]	CID [V]	ion fils [m/z]	ion parent [g/mol]	CID [V]	ion fils [m/z]
Clofentezine	11,32	303,1	137,3	16	102	137,3	18	75
Dichlorvos-D <sub>6</sub>	12,53	227,0	191,3	15				
Dichlorvos	12,60	221,0	109,2	6	79	185,3	14	93
Trifluraline-D <sub>14</sub>	18,02	349,3	315,5	7	267,1			
Trifluraline	18,20	335,3	306,4	7	264	264,4	15	160
α-HCH-D <sub>6</sub>	18,44	296,8	224,3	7	187			
α-HCH	18,53	290,8	219,2	7	183	181,2	16	145
Clomazone	19,14	239,7	204,3	24	107	204,3	24	188
β-HCH	19,21	290,8	219,2	7	183	181,2	16	145
γ-HCH-D <sub>6</sub>	19,22	296,8	224,3	7	187			
γ-HCH	19,34	290,8	219,2	7	183	181,2	16	145
Pyriméthanil	19,62	199,3	198,4	16	198	199,4	12	199
δ-HCH	19,99	290,8	219,2	7	183	181,2	16	145
Chlorothalonil	20,09	265,9	266,2	20	231	266,2	30	168
Bénoxacor	20,42	260,1	259,4	11	120	120,3	14	93
Dimétachlore	20,83	255,7	210,4	5	134	197,4	8	148
Spiroxamine <sup>1</sup>	20,99	297,5	100,4	11	100	100,4	11	72
Acétochlore	21,00	269,8	146,3	16	131	162,4	12	146
Vinchlozoline	21,06	286,1	187,2	16	124	198,3	18	145
Alachlore	21,30	269,8	237,4	6	160	160,4	10	132
Metalaxyl-M	21,48	279,3	192,4	20	160	206,4	20	132
Fenpropidine	21,68	273,5	145,4	18	115	145,4	2	117
Ethofumesate	22,05	286,3	207,1	6	161	286,4	5	207
S-Metolachlore	22,56	283,8	162,4	15	133	238,4	10	162
Cyprodinil	23,68	225,3	225,4	15	224	224,4	19	208
Pendiméthaline	23,97	281,3	252,4	8	162	252,4	4	208
Penconazole	24,02	284,2	159,2	23	123	248,4	22	157
Tolyfluanide	24,19	347,3	238,3	18	137	137,3	11	91
Captane	24,33	300,6	149,3	1	105	149,3	1	79
Triadimenol	24,48	295,8	168,4	1	168	112,3	18	70
Folpel-D <sub>4</sub>	24,56	306,6	264,4	14	134			
Folpel	24,63	296,6	260,2	6	232	260,2	14	130
Zoxamide	24,63	336,6	187,2	16	159	242,3	10	214
Procymidon	24,72	284,2	283,4	8	255	283,4	10	96
o,p'-DDE	25,26	318,1	318,3	20	246	246,3	37	176
α-Endosulfan	25,58	406,9	195,2	46	89	195,2	28	125
Mepanipirim	25,62	223,3	222	24	220	222	20	207
p,p'-DDE-D <sub>8</sub>	26,60	326,1	326,4	25	254,1			
p,p'-DDE	26,75	318,1	318,3	20	246	246,3	37	176
Dieldrine	26,79	380,9	263,2	39	193	263,2	23	228
Myclobutanil	27,12	274,8	179,3	13	125	150,3	21	123

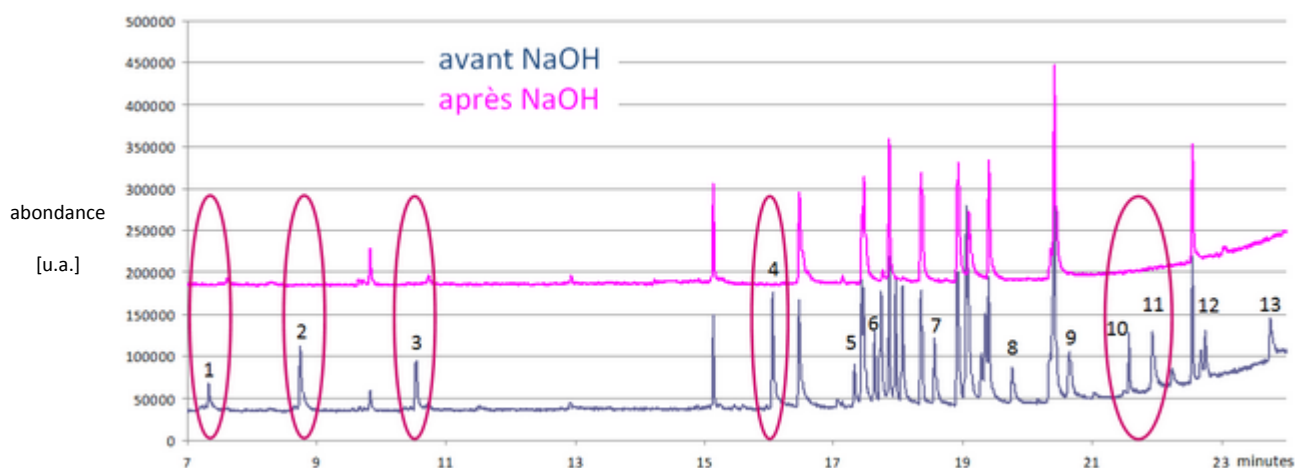
Flusilazole	27,28	315,4	233,4	19	165	315,4	18	233
Bupirimate	27,45	316,4	273,5	8	193	273,5	8	150
Kresoxim méthyl	27,52	313,3	116,3	13	89	131,3	17	130
$\alpha$ -Endosulfan	27,77	406,9	195,2	46	89	195,2	28	125
Cyproconazole	27,82	291,8	139,3	13	111	222,4	6	222
$\beta$ -Endosulfan-D <sub>4</sub>	28,20	410,9	199,3	46	92			
$\beta$ -Endosulfan	28,37	406,9	195,2	46	89	195,2	28	125
Aclonifen	28,89	264,7	264,4	14	194	264,4	12	212
o,p'-DDT	29,05	354,5	235,4	28	165	235,4	18	199
p,p'-DDT-D <sub>8</sub>	30,80	362,5	243,4	34	173			
Lenacile	30,85	324,3	153,3	11	153	153,3	15	136
p,p'-DDT	30,98	354,5	235,4	28	165	235,4	18	199
Trifloxystrobine	31,31	408,4	131,3	28	89	222,4	24	116
Tébuconazole-D <sub>6</sub>	31,64	313,8	256,5	25	127			
Tébuconazole	31,77	307,8	250,4	25	125	125,3	21	89
Tétraconazole	32,02	372,1	336,3	19	191	336,3	19	183
Diclofop méthyl	32,07	341,2	253,1	13	162	340,3	11	253
Diflufénicanil	32,33	394,3	266,4	15	246	394,4	11	266
Dinocap <sup>2</sup>	32,61	364,4	69,1	2	69			
Epoxiconazole	32,88	329,8	187,2	24	159	192,3	11	138
Fénoxycarbe	34,28	301,3	116,3	6	88	186,4	24	77
Bifenthrine	34,59	422,9	181,4	11	166	181,4	19	165
Fenpropathrine	34,95	349,4	186,4	24	77	181,4	24	152
Tébufenpyrad	35,16	333,9	318,5	15	145	318,5	15	131
Fénarimol	38,32	331,2	139,2	5	111	219,4	9	107
$\lambda$ -Cyhalothrine	38,46	449,8	197,3	12	141	197,3	5	161
Benfuracarbe	39,27	410,5	190,4	9	102	190,4	1	144
trans-Perméthrine-D <sub>6</sub>	40,58	397,3	169,3	5	133			
Pyraclostrobin	43,83	387,8	132,3	12	104	164,3	13	132
Azoxystrobine	45,36	403,4	344,5	11	344	344,5	15	329

<sup>1</sup> isomères détectés à 20,99 min et 21,87 min.

<sup>2</sup> isomères détectés à 32,61 min, 33,15 min, 34,23 min et 35,02 min.

### III.2.1.2. Préparation des échantillons de cheveux

Pour l'extraction des pesticides dans les cheveux, il a été envisagé de se baser sur le protocole utilisé pour l'extraction des OH-HAPs à partir des cheveux (voir § II.2.1.2. page 88). 50 mg de poudre de cheveux ont été dopés avec des standards de pesticides (1 ng pour chaque pesticide) et dissous dans 2 mL NaOH 1M à 60 °C. Les pesticides ont été extraits avec 2 fois 2 mL de dichlorométhane, concentrés et analysés. Pourtant, il a été observé que 13 des 60 pesticides analysés se sont dégradés lors de cette étape (figure III.6 ci-dessous).



**Figure III.6 :** Chromatogrammes avant (bleu) et après (rose) incubation des cheveux dans du NaOH 1 M. 13 pesticides ont été dégradés lors de cette étape : 1 = Dichlorvos ; 2 = Diméthachlore ; 3 = Acétochlore ; 4 = Vinchlozoline ; 5 = Alachlore ; 6 = Metalaxyl-M ; 7 = S-Metolachlore ; 8 = Cyprodinil ; 9 = Zoxamide ; 10 = Kresoxim-méthyl ; 11 = Trifloxystrobine ; 12 = Pyraclostrobine ; 13 = Azoxystrobine

Les pesticides ne pouvant pas être extraits des cheveux en dissolvant ceux-ci dans la soude, il a été décidé de développer un protocole d'extraction plus doux basé sur le principe de l'extraction solide-liquide. 50 mg de cheveux ont été coupés en segments de 2 à 3 mm et pulvérisés dans un broyeur à billes. La poudre ainsi obtenue a été dopée avec des standards de pesticides (1 ng pour chaque pesticide), incubée dans 1 mL d'acétonitrile et agitée à 40 °C pendant une nuit. Après agitation, la solution a été centrifugée pour dégager les cheveux, et analysée. Une dégradation n'ayant été observée pour aucun composé, ce protocole a été utilisé pour extraire les pesticides des cheveux.

### III.2.1.3. Optimisation des conditions SPME

La fibre SPME utilisée pour les pesticides sur les capteurs (PDMS/DVB) a été maintenue pour l'analyse des pesticides dans les cheveux, puisque c'est la seule fibre permettant l'extraction de tous les pesticides et donnant une réponse analytique élevée (§ III.1.2.1. page 103). La dilution de l'extrait dans l'acétonitrile n'a pas été faite dans une solution aqueuse à saturation en NaCl de 2 %, mais dans un tampon phosphate à pH 7 pour éviter des fluctuations de pH. La température et la durée de l'extraction ont été optimisées selon la procédure utilisée pour l'optimisation de l'extraction des pesticides à partir des extraits de capteurs passifs (voir § III.1.2.1. page 103). La température d'extraction a été variée entre

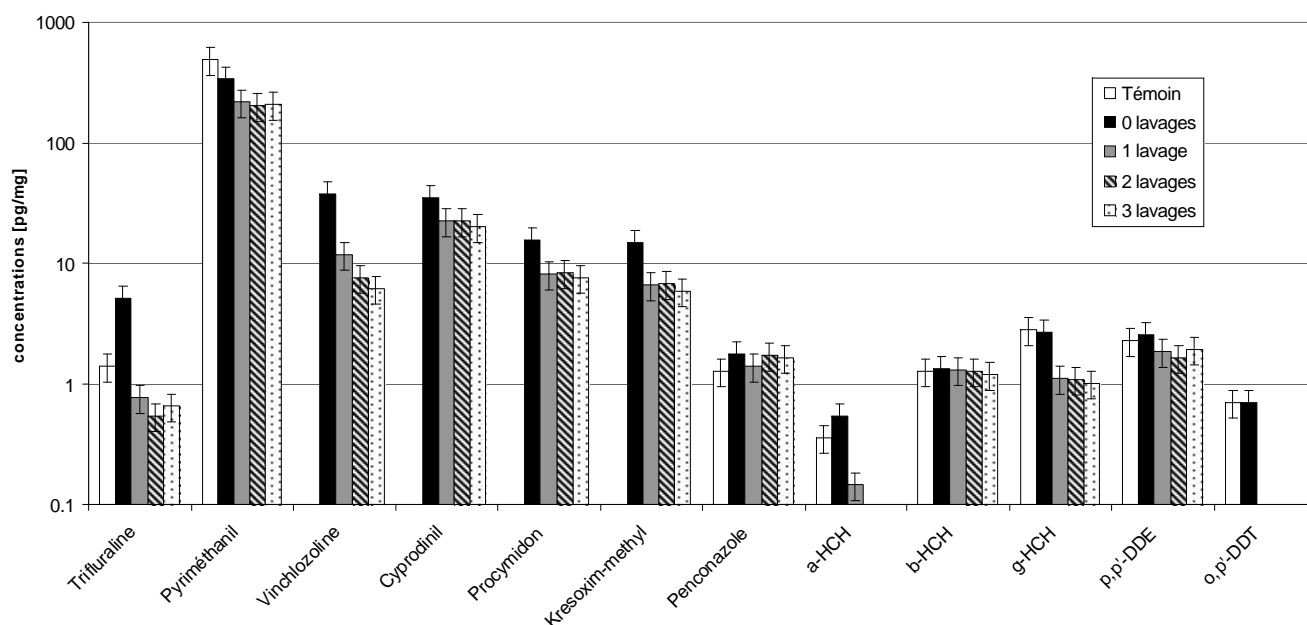
30 °C (température ambiante) et 90 °C, et le temps d'extraction entre 10 minutes et 90 minutes. Le temps d'extraction de 90 minutes convient à tous les pesticides analysés, mais, en ce qui concerne la température, il n'a pas été possible de trouver des conditions optimales d'extraction valables pour tous les pesticides. Certains pesticides ont pu être extraits à 30 °C mais pas du tout à 90 °C (p.ex. Penconazole, Spiroxamine, Mepanipyrim) et d'autres à 90 °C mais pas du tout à 30 °C (p.ex. Bifenthrine, o,p'- et p,p'-DDT). Ainsi, il a été décidé de faire deux extractions successives de 90 minutes, la première à 30 °C, et la deuxième à 90 °C. Pourtant, d'autres pesticides (p.ex. Benfuracarbe, Bénéoxacor, Metalaxyl-M, Pyriméthanil, S-Metolachlore) n'ont pas pu être extraits du tout de façon convenable en utilisant la SPME, et il a été décidé d'injecter ceux-ci sous forme liquide. Ceci a entraîné des limites de détection plus élevées, mais il était au moins possible de les analyser. Les conditions d'analyse pour chaque pesticide (SPME à 30 ou à 90 °C, injection liquide) sont données dans le tableau III.7 page 135.

#### **III.2.1.4. Influence d'une étape de lavage des cheveux**

Pour pouvoir évaluer l'effet d'une étape de lavage, il faut disposer de cheveux ayant des dépôts de pesticides à la surface. Ainsi, il a été essayé de provoquer un dépôt de pesticides sur des cheveux en les exposant à de l'air contaminé en pesticides. Pour ceci, 10 g de cheveux (longueur : 1 – 2 cm) préalablement lavés au shampoing ont été prélevés auprès d'un volontaire, introduits dans un cylindre maillé en acier inoxydable et exposés pendant une semaine dans une chambre de simulation d'atmosphère (1,4 m en largeur et 0,9 m en hauteur) (Tuduri et al., 2006) contenant de l'air chargé avec 12 des 61 pesticides analysés dans cette étude (Bifenthrine, Bupirimate, Cyprodinil, Dichlorvos, Kresoxim-methyl, S-Metolachlore, Myclobutanil, Penconazole, Procymidon, Pyriméthanil, Trifluraline, Vinchlozoline). L'exposition des cheveux dans la chambre de simulation a été réalisée dans le cadre d'une autre étude, et il n'était pas possible d'y inclure tous les 61 pesticides recherchés. Un échantillon des mêmes cheveux n'a pas été exposé et servait de référence.

Après exposition, les cheveux ont été répartis en quatre échantillons. Le premier a été analysé sans aucun traitement, et les autres ont été lavés avec de l'eau distillée pendant une minute et de l'acétonitrile pendant une autre minute. Le lavage à l'eau a servi à enlever la contamination grossière comme les poussières, et l'acétonitrile a été choisi parce que tous les pesticides analysés dans cette étude y sont très solubles (> 1 g/L). Ce rinçage successif à

l'eau et à l'acétonitrile a été effectué une fois pour le deuxième échantillon, deux fois pour le troisième et trois pour le quatrième. A la fin des lavages, les cheveux ont été séchés avec du papier absorbant et placés à l'étuve à 60 °C pendant 5 minutes. Chaque série d'échantillons a été préparée en triplicata. Après les lavages, les cheveux ont été pulvérisés et analysés comme décrit précédemment (III.2.1.3. page 130). Les résultats sont présentés dans la figure III.7 ci-dessous.



**Figure III.7 :** Influence de un, deux et trois cycles de décontamination des cheveux sur les concentrations en pesticides mesurées dans les cheveux

Huit pesticides (Trifluraline, Pyriméthanal, Penconazole,  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -HCH, p,p'-DDE et o,p'-DDT) ont été détectés dans les cheveux non-exposés (témoin) à des concentrations moyennes variant entre 0,35 pg/mg pour l' $\alpha$ -HCH et 484 pg/mg pour le Pyriméthanal. Dans les échantillons exposés à l'air contaminé dans la chambre de simulation, quatre pesticides supplémentaires ont été détectés (Vinchlozoline, Cyprodinil, Procymidon et Kresoxim-méthyl) à des concentrations variant entre 14,8 pg/mg pour le Kresoxim-méthyl et 37,4 pg/mg pour le Vinchlozoline. Pour la plupart des pesticides, les concentrations ont augmenté après l'exposition à l'air contaminé (p.ex. augmentation de 1,4 à 5,0 pg/mg pour la Trifluraline), alors que la concentration du Pyriméthanal a diminué (338 pg/mg après exposition contre 484 pg/mg avant exposition). Cette diminution peut être due à un

enlèvement de restes de ce pesticide présents à la surface du cheveu ou à une disparition (enlèvement ou dégradation) à partir de l'intérieur du cheveu, p.ex. par le vent dans la chambre de simulation. Pourtant, une dégradation est improbable vu que le temps de demi-vie de ce pesticide est élevé (> 22 jours) et la chambre de simulation était protégée contre des influences externes comme les rayons UV.

Les concentrations des pesticides  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -HCH, p,p'-DDE et o,p'-DDT, qui ont été détectés dans les échantillons-témoins mais qui n'ont pas été présents dans l'air de la chambre de simulation, n'ont pas significativement changé après l'exposition. Ceci suggère qu'ils ont été présents sur ou dans les cheveux au moment du prélèvement et que leurs concentrations n'ont pas été affectées par l'exposition dans la chambre de simulation.

Après le premier cycle de lavage, la concentration a diminué pour tous les pesticides à l'exception du Penconazole, du  $\beta$ -HCH et du p,p'-DDE. Le o,p'-DDT a même disparu complètement. Après le deuxième et le troisième cycle de lavage, aucun changement significatif des concentrations n'a été observé, à l'exception du  $\alpha$ -HCH qui n'a été détecté qu'à des concentrations en-dessous de la limite de quantification après le deuxième cycle. Il a donc été conclu qu'un lavage des cheveux avec de l'eau et de l'acétonitrile suffit pour enlever les pesticides se trouvant éventuellement à la surface des cheveux et réduire ainsi considérablement le risque d'influence de contaminations externes sur les concentrations mesurées dans les cheveux. Le fait que les concentrations de tous les pesticides sont restées constantes à travers le deuxième et le troisième cycle de lavage montre en plus que le lavage à l'eau et à l'acétonitrile n'affecte pas les pesticides incorporés à l'intérieur du cheveu, possibilité suggérée pour les HAPs en lavant les cheveux avec d'autres solvants organiques comme le méthanol ou le dichlorométhane (Toriba et al., 2003).

Les concentrations du  $\gamma$ -HCH, du o,p'-DDT et du  $\alpha$ -HCH ont aussi diminué après le premier lavage, alors que ces pesticides n'ont pas été présents dans l'air de la chambre de simulation. Une observation similaire a été faite pour la Trifluraline qui a été détectée à une concentration moyenne de 1,38 pg/mg dans les échantillons de référence, mais qui a diminué jusqu'à 0,77, 0,53 et 0,65 pg/mg après les trois cycles de lavage. Le protocole de lavage semblant ne pas attaquer les pesticides à l'intérieur des cheveux, ces pesticides ont dû être présents à la surface du cheveu au moment du prélèvement. Ceci suggère qu'un lavage au shampooing commercial qui a été employé dans d'autres études pour enlever des

contaminations externes en pesticides (Altshul et al., 2004), n'est pas adapté à l'élimination complète des pesticides sur les cheveux.

Le Vinchlozoline, le Cyprodinil, le Procymidon et le Kresoxim-méthyl n'ont pas été détectés dans les échantillons de référence, mais leurs concentrations sont, elles aussi, restées constantes après le premier lavage. Pourtant, comme ils n'ont pas été détectés dans les cheveux avant l'exposition, leurs concentrations auraient dû revenir à zéro après le lavage. Deux explications peuvent être proposées : soit ces pesticides se sont fixés de façon irréversible à la surface des cheveux et par conséquent il n'est plus possible de les identifier en tant que dépôts, soit ils ont été incorporés dans les cheveux.

Les concentrations du Penconazole, du  $\beta$ -HCH et du p,p'-DDE sont restées constantes sur toute l'étude. Ceci pourrait signifier que ces pesticides ont déjà été présents dans les cheveux au moment du prélèvement, et le fait que leur concentration n'a pas changé pourrait signifier qu'ils ont été présents uniquement à l'intérieur des cheveux et pas à leur surface. Les pesticides Bifenthrine, Myclobutanil, Dichlorvos et Bupirimate, présents dans l'air de la chambre de simulation atmosphérique et recherchés dans les cheveux, n'ont été détectés à aucun moment. Ces pesticides ont peut-être trop peu d'affinité pour les cheveux et ne s'y sont pas fixés.

### **III.2.1.5. Validation de la méthode**

La calibration de la méthode a été faite en dopant des cheveux « blancs » (des cheveux ayant des concentrations en pesticides en-dessous de la limite de détection) avec des standards de pesticides aux concentrations suivantes : 0, 0,1, 0,2, 1, 2, 10, 20, 40 et 100 pg/mg. Dix standards internes ont été rajoutés aux cheveux à des concentrations de 10 pg/mg pour Trifluraline-D<sub>14</sub>,  $\alpha$ -HCH-D<sub>6</sub>,  $\gamma$ -HCH-D<sub>6</sub>, p,p'-DDE-D<sub>8</sub>, p,p'-DDT-D<sub>8</sub>, Tebuconazole-D<sub>6</sub> et trans-Perméthrine-D<sub>6</sub>, et 100 pg/mg pour Dichlorvos-D<sub>6</sub>, Folpel-D<sub>4</sub> et  $\beta$ -Endosulfan-D<sub>4</sub>, pour faire un étalonnage interne. L'aire de chaque pesticide a été normalisée par rapport à l'aire de l'étalon interne qui éluait le plus proche de lui ou qui avait les propriétés physico-chimiques les plus proches (voir tableau III.7). Les limites de détection (LD) ont été fixées comme étant le point de gamme le plus faible pour lequel toutes les transitions d'un composé ont pu être observées. Les limites de quantification (LQ) ont été fixées comme étant dix fois le rapport signal/bruit. Les variations intra- et inter-jour ainsi que les



rendements d'extraction ont été déterminés pour les concentrations 1 et 20 pg/mg. Les résultats sont donnés dans le tableau III.7.

**Tableau III.7 :** Paramètres de validation de la méthode d'analyse et modes d'injection des pesticides (injection liquide, SPME à 30 °C ou SPME à 90 °C). [ $\rho$  = rendement d'extraction ; n.d. = non détecté ; n.a. = non analysable]

Pesticide	R <sup>2</sup>	mode d'injection	CV <sub>intra-jour</sub> [%] (1 pg/mg ; 20 pg/mg)	CV <sub>inter-jour</sub> [%] 1 pg/mg ; 20 pg/mg	LD [pg/mg]	LQ [pg/mg]	$\rho$ [%] 1 pg/mg ; 20 pg/mg
Acétochlore <sup>3</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,887)						
Aclonifen <sup>5</sup>	0,992	SPME 30	4,04 ; 10,23	10,04 ; 22,57	0,01	0,1	86 ; 90
Alachlore <sup>3</sup>	0,998	SPME 30	n.d. ; 3,37	n.d. ; 21,75	0,1	2	n.d. ; 103
Azoxystrobine <sup>10</sup>	0,991	SPME 30	n.d. ; 9,35	n.d. ; 29,07	1	10	n.d. ; 106
Benfuracarbe <sup>10</sup>	0,980	liquide	n.d. ; 8,65	n.d. ; 37,37	1	2	n.d. ; 98
Bénoxacor <sup>3</sup>	0,997	liquide	n.d. ; 6,96	n.d. ; 25,73	1	10	n.d. ; 66
Bifenthrine <sup>10</sup>	0,990	SPME 90	n.d. ; 8,54	n.d. ; 10,78	1	10	n.d. ; 87
Bupirimate <sup>5</sup>	0,995	SPME 30	n.d. ; 24,1	n.d. ; 26,88	0,1	2	n.d. ; 89
Captane <sup>5</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,007)						
Chlorothalonil <sup>3</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,918)						
Clofentezine <sup>1</sup>	0,993	SPME 30	n.d. ; 11,36	n.d. ; 26,28	0,01	2	n.d. ; 76
Clomazone <sup>3</sup>	0,998	SPME 30	n.d. ; 3,14	n.d. ; 15,38	0,1	2	n.d. ; 105
$\lambda$ -Cyhalothrine <sup>10</sup>	0,996	SPME 90	17,97 ; 8,77	28,53 ; 23,75	0,05	0,1	92 ; 83
Cyproconazole <sup>9</sup>	0,998	SPME 30	n.d. ; 14,72	n.d. ; 19,64	1	2	n.d. ; 104
Cyprodinil <sup>5</sup>	0,995	SPME 30	n.d. ; 17,54	n.d. ; 31,87	0,1	2	n.d. ; 80
Deltaméthrine <sup>10</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,121)						
Dichlorvos <sup>2</sup>	0,994	liquide	n.d. ; 9,16	n.d. ; 18,00	1	2	n.d. ; 42
Diclofop méthyl <sup>5</sup>	0,996	SPME 30	13,52 ; 8,53	32,63 ; 34,10	0,001	0,1	87 ; 75
Dieldrine <sup>5</sup>	0,997	SPME 30	n.d. ; 7,37	n.d. ; 36,01	1	2	73 ; 72
Diflufénicanil <sup>5</sup>	0,995	SPME 90	13,20 ; 2,81	31,64 ; 26,33	0,001	0,1	91 ; 78
Dimétachlore <sup>3</sup>	0,998	SPME 30	57,77 ; 10,09	28,90 ; 16,82	0,01	0,1	102 ; 90
Dinocap <sup>5</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,435)						
o,p'-DDE <sup>7</sup>	0,997	SPME 30	43,87 ; 10,42	18,73 ; 24,67	0,01	0,1	75 ; 76
o,p'-DDT <sup>5</sup>	0,998	SPME 90	12,00 ; 3,09	25,30 ; 21,44	0,05	0,1	80 ; 74
p,p'-DDE <sup>8</sup>	0,999	SPME 90	4,19 ; 1,48	12,41 ; 6,95	0,05	0,1	102 ; 78
p,p'-DDT <sup>5</sup>	0,999	SPME 90	n.d. ; 10,63	n.d. ; 16,75	1	2	107 ; 80
$\alpha$ -Endosulfan <sup>8</sup>	0,999	SPME 30	n.d. ; 15,66	n.d. ; 8,24	1	2	n.d. ; 73
$\beta$ -Endosulfan <sup>8</sup>	0,997	SPME 30	7,54 ; 2,49	28,93 ; 15,56	1	2	89 ; 86
Epoxiconazole <sup>9</sup>	0,999	SPME 30	n.d. ; 4,71	n.d. ; 14,42	0,1	2	n.d. ; 88
Ethofumesate <sup>5</sup>	0,994	liquide	n.d. ; 3,61	n.d. ; 35,14	1	2	n.d. ; 77
Fénarimol <sup>10</sup>	0,997	SPME 30	12,73 ; 5,19	24,37 ; 31,22	0,001	2	88 ; 84
Fénoxycarbe <sup>10</sup>	0,997	SPME 30	n.d. ; 4,41	n.d. ; 28,18	0,1	2	n.d. ; 83
Fenpropathrine <sup>10</sup>	0,992	SPME 90	n.d. ; 22,00	n.d. ; 15,30	1	2	n.d. ; 90

Fenpropidine <sup>3</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,312)						
Flusilazole <sup>5</sup>	0,995	SPME 30	16,27 ; 26,69	20,48 ; 49,57	0,1	1	80 ; 85
Folpel <sup>6</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,142)						
α-HCH <sup>3</sup>	0,999	SPME 30	4,02 ; 2,96	13,63 ; 8,72	0,5	0,1	71 ; 75
β-HCH <sup>3</sup>	0,999	SPME 30	5,71 ; 1,29	8,10 ; 13,97	1	1	80 ; 82
γ-HCH <sup>4</sup>	0,993	SPME 30	2,91 ; 6,75	39,84 ; 30,87	0,5	0,1	112 ; 82
δ-HCH <sup>3</sup>	0,994	SPME 30	14,09 ; 4,85	24,55 ; 23,00	1	0,1	82 ; 84
Kresoxim méthyl <sup>5</sup>	0,996	SPME 30	11,47 ; 10,79	23,84 ; 21,98	0,01	0,1	79 ; 84
Lenacile <sup>5</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,316)						
Mepanipyrim <sup>5</sup>	0,995	SPME 30	13,70 ; 19,73	35,84 ; 31,66	0,01	0,1	70 ; 107
Metalaxyl-M <sup>3</sup>	0,994	liquide	n.d. ; 20,25	n.d. ; 34,50	1	10	n.d. ; 59
Myclobutanil <sup>5</sup>	0,994	SPME 30	n.d. ; 13,7	n.d. ; 27,67	0,1	10	n.d. ; 90
Penconazole <sup>5</sup>	0,996	SPME 30	10,51 ; 20,2	21,56 ; 32,74	0,001	1	91 ; 102
Pendiméthaline <sup>5</sup>	0,992	SPME 30	n.d. ; 15,25	n.d. ; 28,86	1	10	n.d. ; 78
Procymidon <sup>5</sup>	0,996	SPME 30	3,12 ; 16,51	9,43 ; 23,70	0,1	1	101 ; 95
Pyraclostrobine <sup>10</sup>	0,994	SPME 30	n.d. ; 4,23	n.d. ; 32,08	0,1	2	n.d. ; 98
Pyriméthanil <sup>3</sup>	0,997	liquide	n.d. ; 27,01	n.d. ; 16,07	0,5	10	n.d. ; 86
S-Metolachlore <sup>5</sup>	0,991	liquide	n.d. ; 3,17	n.d. ; 27,10	1	2	n.d. ; 70
Spiroxamine <sup>3</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,045)						
Tébuconazole <sup>9</sup>	0,999	SPME 30	n.d. ; 19,27	n.d. ; 18,25	0,001	1	n.d. ; 86
Tébufenpyrad <sup>10</sup>	0,995	SPME 30	3,68 ; 2,11	30,19 ; 27,40	0,001	0,1	102 ; 77
Tétraconazole <sup>5</sup>	0,993	SPME 30	n.d. ; 8,77	n.d. ; 33,45	0,001	2	n.d. ; 84
Tolyfluanide <sup>5</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,003)						
Triadimenol <sup>5</sup>	n. a. (R <sup>2</sup> = 0,222)						
Trifloxystrobine <sup>5</sup>	0,996	SPME 30	9,18 ; 6,8	25,66 ; 29,83	0,01	0,1	88 ; 79
Trifluraline <sup>1</sup>	0,999	SPME 30	13,45 ; 2,17	12,86 ; 5,71	0,001	0,1	87 ; 72
Vinchlozoline <sup>3</sup>	0,999	SPME 30	9,35 ; 8,94	29,44 ; 34,36	0,001	0,1	104 ; 105
Zoxamide <sup>5</sup>	0,981	SPME 30	n.d. ; 14,26	n.d. ; 19,47	0,1	10	n.d. ; 82

<sup>1</sup> normalisé par rapport au standard interne Trifluraline-D<sub>14</sub>

<sup>2</sup> normalisé par rapport au standard interne Dichlorvos-D<sub>6</sub>

<sup>3</sup> normalisé par rapport au standard interne α-HCH-D<sub>6</sub>

<sup>4</sup> normalisé par rapport au standard interne γ-HCH-D<sub>6</sub>

<sup>5</sup> normalisé par rapport au standard interne p,p'-DDT-D<sub>8</sub>

<sup>6</sup> normalisé par rapport au standard interne Folpel-D<sub>4</sub>

<sup>7</sup> normalisé par rapport au standard interne p,p'-DDE-D<sub>8</sub>

<sup>8</sup> normalisé par rapport au standard interne β-Endosulfan-D<sub>4</sub>

<sup>9</sup> normalisé par rapport au standard interne Tebuconazole-D<sub>6</sub>

<sup>10</sup> normalisé par rapport au standard interne t-Perméthrine-D<sub>6</sub>

Les coefficients de la majorité des pesticides ont été supérieurs à 0,981 montrant la linéarité des droites d'étalonnage sur tout le domaine de calibration. Pourtant, pour certains pesticides (Acétochlore, Captane, Chlorothalonil, Dinocap, Fenpropidine, Folpel, Lenacile,

Spiroxamine, Tolyfluanide, Triadimenol), il n'a pas été possible de les calibrer sur le domaine de concentration choisi, ni en les injectant sous forme liquide, ni après préconcentration par SPME. C'est pourquoi, ces pesticides n'ont pas été analysés dans les cheveux. Les limites de détection ont varié entre 0,001 et 1 pg/mg et les limites de quantification entre 0,1 et 10 pg/mg. Avec ces paramètres de validation, la méthode développée est de sensibilité comparable ou meilleure vis-à-vis aux méthodes développées jusque maintenant par d'autres groupes de recherche, mais qui n'ont analysé que des pesticides organochlorés. En comparaison avec des études ayant analysé des pesticides appartenant à plusieurs familles différentes (p.ex. Cyperméthrine [pyréthroïdes], Cyfluthrine [pyréthroïdes de synthèse], Chlorpyrifos [organophosphate]) (Ostrea et al., 2006, 2008 ; Posecion et al., 2006), les limites de détection obtenues dans la présente étude ont été considérablement améliorées (de plusieurs ordres de grandeur) et le nombre de composés analysés est beaucoup plus grand (50 contre 11 et 12) (tableau III.8).

**Tableau III.8 :** Comparaison des limites de détection de cette étude avec celles d'autres études.

nombre de pesticides analysés	limites de détection [pg/mg]	familles de pesticides analysés	référence
7	1 - 10	organochlorés	Covaci et Schepens, 2001
9	0,01 - 0,32	organochlorés	Altshul et al., 2004
11	30,5 - 488,0	diverses	Ostrea et al. 2006, 2008
12	180 - 5880	diverses	Posecion et al., 2006
9	0,002 - 0,06	organochlorés	Zhang et al., 2007
13	0,1 - 0,2	organochlorés	Covaci et al., 2008
14	2 - 5	organochlorés	Tsatsakis et al., 2008
50	5 - 20	organophosphorés	Tsatsakis et al., 2010
<b>50</b>	<b>0,001 - 1</b>	<b>diverses</b>	<b>cette étude</b>

Les coefficients de variation intra- et inter-jour obtenus dans cette étude ont varié entre 1,29 % ( $\beta$ -HCH) et 49,57 % (Flusilazole). Ces valeurs sont globalement plus élevées que celles d'études similaires où les CVs ont été en-dessous de 20 % (Altshul et al., 2004 ; Ostrea et al., 2006, 2008 ; Tsatsakis et al., 2010), en-dessous de 15 % (Gill et al., 2004 ; Covaci et al., 2008) ou même en-dessous de 11 % (Posecion et al., 2006 ; Zhang et al., 2007). Comme énoncé

plus haut, la contrainte majoritaire dans cette étude-ci a été de trouver un compromis permettant l'analyse simultanée d'un nombre très important de pesticides. Pourtant, des coefficients de variation comparables à ceux de cette étude ont été rapportés dans d'autres études ayant analysé simultanément un nombre élevé de pesticides dans l'air (jusqu'à 52,8 %, Scheyer, 2004 ; jusqu'à 33 %, Sadiki et Poissant, 2008).

Les rendements d'extraction ont varié entre 42 % (Dichlorvos) et 112 % ( $\gamma$ -HCH). Ce rendement doit quand même être considéré comme « rendement d'extraction apparent » car l'extraction a été faite par agitation des cheveux pulvérisés dans de l'acétonitrile où, contrairement à une dissolution complète dans de la soude, il n'est pas connu si la totalité des pesticides compris dans les cheveux a été extraite. Ne disposant pas de cheveux certifiés dont la teneur en pesticides est exactement connue, il n'a pas pu être vérifié si le protocole d'extraction développé permet d'extraire la totalité des pesticides. La seule étape qui a donc été évaluée, a été le taux de récupération des composés pendant l'agitation des cheveux dans l'acétonitrile pendant 12 heures à 40 °C. Vu les rendements parfois sensiblement inférieurs à 100 %, des pertes ont pu être observées pour certains pesticides, bien que les flacons aient été fermés hermétiquement.

### **III.2.2. Détermination des pesticides dans les cheveux de personnes exposées aux pesticides par leur profession**

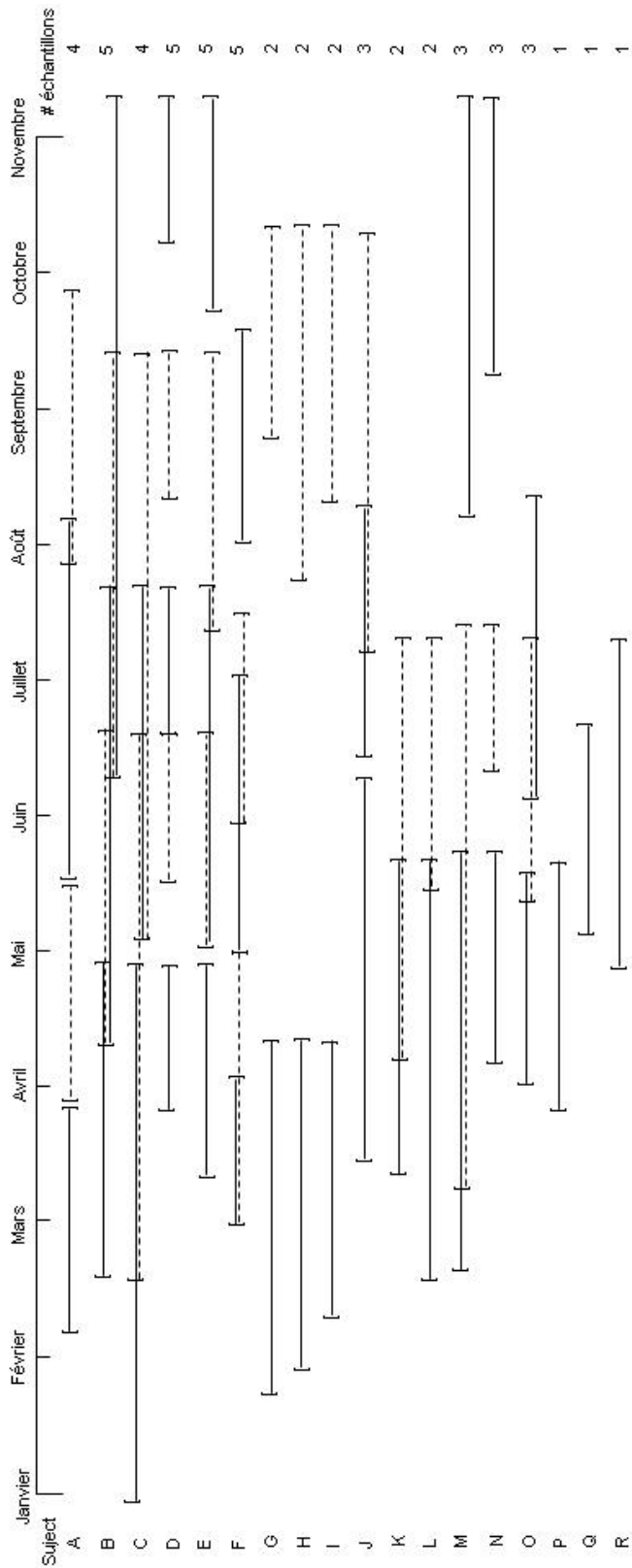
La méthode développée ci-dessus a été utilisée pour étudier l'exposition aux pesticides d'agriculteurs et de viticulteurs étant en contact avec les pesticides dans l'exercice de leur activité professionnelle et ayant donc, à priori, une exposition aux pesticides plus élevée que la population générale.

L'autre volet de cette étude a été d'étudier si les analyses de cheveux permettent d'informer sur des expositions ayant eu lieu dans le passé. Pour ceci, plusieurs prélèvements de cheveux ont été faits sur les mêmes personnes à des intervalles réguliers pendant toute une année, et les variations en fonction du temps des concentrations de pesticides dans les cheveux ont été étudiées.

### **III.2.2.1. Echantillonnage des cheveux et population étudiée**

Des échantillons de cheveux ont été prélevés auprès de 18 volontaires étant soit agriculteur, soit viticulteur, et désignés sujets A – R. Les sujets A – I et les sujets P et Q sont des viticulteurs et les autres sujets (sujets J – O et le sujet R) sont des agriculteurs cultivant majoritairement des céréales (blé, orge, seigle), du maïs et du colza. Aucun volontaire n'a appliqué des traitements cosmétiques sur ses cheveux (coloration, décoloration), à part le lavage régulier avec du shampoing. Toutes les personnes ont été informées sur le but de l'étude et ont signé une déclaration de consentement. Pour faciliter un prélèvement régulier, les volontaires ont eu le choix de se faire prélever les cheveux sur leur lieu de travail par un membre du laboratoire ou de nous faire parvenir un échantillon de cheveux après la coupe de cheveux usuelle chez leur coiffeur, en respectant les consignes qui leur ont été imposées (prélever les cheveux sur la partie arrière du crâne, noter la longueur des cheveux restant sur la tête, isolement des cheveux immédiatement après le prélèvement et stockage dans de l'aluminium). Après le prélèvement, les cheveux ont été emballés dans une feuille d'aluminium et stockés à l'obscurité jusqu'à l'analyse.

Les périodes couvertes par les échantillons de cheveux ont été recalculées en fonction de la longueur de ceux-ci en se basant sur une vitesse de croissance moyenne de 1 cm/mois (Wennig, 2000). La période couverte par l'ensemble des échantillons de cheveux prélevés s'est étendue de janvier à novembre 2008 (figure III.8).



**Figure III.8 :** Périodes (de l'année 2008) couvertes par les échantillons de cheveux des 18 volontaires ayant participé à l'étude et le nombre d'échantillons prélevés sur chacun des 18 volontaires. Chaque ligne (continue ou hachurée) délimitée par des crochets représente un échantillon de cheveux.

### III.2.2.2. Analyse des échantillons de cheveux collectés

Les échantillons de cheveux prélevés ont été analysés. 50 pesticides ont été recherchés dans les cheveux et 34 en ont été détectés au moins une fois. Les résultats des pesticides détectés dans les cheveux sont donnés dans le tableau III.9.

**Tableau III.9:** Pesticides détectés dans les échantillons de cheveux, fréquences de détection des pesticides (F.D.), concentrations minimales et maximales, médianes des concentrations et écart-types

pesticide	F.D.	nombre de sujets avec détections (n = 18)	concentrations min./max. [pg/mg]	médiane [pg/mg]	écart-type [pg/mg]
Azoxystrobine	22,60 %	12	<LQ / 394,15	78,6	114,47
Bifenthrine	3,20 %	2	<LQ	-	-
Clofentézine	1,60 %	1	<LQ	-	-
λ-Cyhalothrine	4,80 %	3	2,35 / 14,72	5,68	6,39
Cyproconazole	3,20 %	2	<LQ / 15,59	15,59	-
Cyprodinil	35,40 %	12	<LQ / 1161,10	9,05	267,63
o,p'-DDE	19,30 %	9	<LQ / 0,79	0,34	0,19
p,p'-DDE	80,60 %	18	<LQ / 20,97	2,24	3,3
o,p'-DDT	9,70 %	10	<LQ / 2,99	0,81	0,97
p,p'-DDT	20,90 %	12	<LQ	-	-
Diflufénicanil	22,60 %	13	<LQ / 51,89	5,38	18,08
B-Endosulfan	12,90 %	5	<LQ / 105,49	4,82	37,57
Epoconazole	17,70 %	11	<LQ / 109,61	19,94	49,36
Ethofumesate	3,20 %	2	<LQ / 15,15	15,15	-
Fenpropathrine	4,80 %	3	2,21 / 81,89	9,41	44,07
Flusilazole	6,40 %	4	<LQ / 1,42	0,64	0,57
α-HCH	4,80 %	8	<LQ / 1,64	1,4	0,35
β-HCH	4,80 %	12	<LQ / 1,61	1,43	0,19
δ-HCH	3,20 %	2	0,3 / 2,07	1,22	-
γ-HCH	66,10 %	18	<LQ / 23,53	1,45	4,64
Kresoxim-méthyl	19,30 %	7	0,33 / 118,86	5,1	43,81
Mepanipirim	1,60 %	1	-	0,83	-
S-Metolachlore	6,40 %	4	<LQ / 21,86	14,46	6,68
Myclobutanil	3,20 %	2	<LQ	-	-
Penconazole	14,50 %	6	<LQ / 5,12	1,75	1,26
Pendiméthaline	8,00 %	5	<LQ	-	-
Pyraclostrobine	1,60 %	1	-	31,68	-
Pyriméthanil	27,40 %	13	<LQ / 792,24	42,2	207,19
Tébuconazole	14,50 %	9	<LQ / 2,22	1,74	0,34
Tébufenpyrad	12,90 %	8	<LQ	-	-
Trifloxystrobine	41,90 %	11	<LQ / 96,91	1,52	23,56
Trifluraline	19,30 %	11	<LQ / 0,40	0,24	0,1
Vinchlozoline	11,20 %	5	<LQ / 9,23	1,11	3,07
Zoxamide	3,20 %	2	<LQ / 46,45	31,78	20,75

9 des 11 pesticides organochlorés recherchés ont été détectés ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\delta$ -,  $\gamma$ -HCH, o,p', p,p'-DDE, o,p', p,p'-DDT,  $\beta$ -Endosulfan), mais les concentrations du p,p'-DDT n'ont jamais dépassé la limite de quantification de 2 pg/mg. Les concentrations des autres pesticides organochlorés ont varié entre 0,1 pg/mg (o,p'-DDE) et 23,53 pg/mg ( $\gamma$ -HCH), avec des concentrations médianes variant de 0,34 à 2,24 pg/mg. Ces deux pesticides (o,p'-DDE et  $\gamma$ -HCH) ont été les deux seuls pesticides de toute la liste qui ont été détectés au moins une fois chez chacun des 18 volontaires. Il semble donc que les 18 volontaires ont tous eu une exposition régulière au  $\gamma$ -HCH et au o,p'-DDE (ou au o,p'-DDT, le o,p'-DDE étant un métabolite du o,p'-DDE) alors que l'exposition à d'autres pesticides (Bifenthrine, Pyraclostrobine,...) ou aux isomères  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\delta$  des HCH a été sporadique.

Les concentrations des quatre HCHs mesurées dans cette étude ont été plus basses que celles décrites dans d'autres études dans lesquelles des valeurs médianes variant entre 5,8 et 70,2 pg/mg ont été mesurées (Covaci et al., 2008, Tsatsakis et al., 2008). Les concentrations des DDEs et DDTs mesurées par Tsatsakis et al. (2008) ont varié de 2,6 pg/mg à 23,3 pg/mg, ce qui est encore une fois plus élevé que les valeurs médianes mesurées dans cette étude-ci pour ces deux pesticides. Pourtant, Covaci et al. (2008) ont mesuré des concentrations de DDEs et DDTs allant jusqu'à 192,0 pg/mg, ce qui est beaucoup plus élevé que les valeurs mesurées ici, mais, vu qu'ils n'ont décontaminé les cheveux qu'avec de l'eau distillée il serait possible qu'ils n'aient pas enlevé toute la contamination externe (cf. § II.2.1.3. page 90). D'autres études décrivant des concentrations en pesticides organochlorés plus élevées que dans cette étude-ci ont été trouvées dans la littérature (Neuber et al., 1999 ; Covaci and Schepens, 2001 ; Covaci et al., 2002 ; Ostrea et al., 2009), mais les cheveux n'y ont pas été décontaminés non plus avant l'analyse. Ainsi il ne peut pas être exclu qu'il y ait eu confusion entre contamination externe et interne.

En ce qui concerne les pesticides non-organochlorés, 25 des 39 pesticides recherchés ont été détectés, mais pour 5 composés (Bifenthrine, Clofentézine, Myclobutanil, Pendiméthaline et Tébufenpyrad), les concentrations n'ont jamais dépassé la limite de quantification. Cinq pesticides ont été détectés à la fois sur les capteurs passifs (voir § III.1.4. page 117) et dans les cheveux à des concentrations > LQ (Cyprodinil, Diflufénicanil, Flusilazole, Trifloxystrobine, Vinchlozoline), quatre ont été détectés à des concentrations > LQ sur les capteurs mais pas dans les cheveux (Bénoxacor, Ethofumesate, Fénoxycarbe, Zoxamide) et onze ont été détectés à des concentrations > LQ dans les cheveux mais pas sur



les capteurs passifs (Azoxystrobine,  $\lambda$ -Cyhalothrine, Cyproconazole, Epoxiconazole, Fenpropathrine, Kresoxim-méthyl, Penconazole, Pyriméthanil, Tébuconazole, Trifluraline, Zoxamide). Il y a donc un déséquilibre important entre les profils des détections de pesticides dans ces deux matrices. Les concentrations des pesticides détectés dans les cheveux ont varié (pour les concentrations > LQ) de 0,11 pg/mg (Trifluraline) à 1161,10 pg/mg (Cyprodinil) et les médianes de 0,24 pg/mg (Trifluraline) à 78,60 pg/mg (Azoxystrobine). L'Azoxystrobine et le Cyprodinil ont donc été les pesticides les plus concentrés. Pourtant l'Azoxystrobine n'a jamais été détecté sur les capteurs et le Cyprodinil n'y a été détecté qu'à de faibles concentrations (<280 ng/capteur, soit 0,6 % de la concentration maximale de 42 100 ng/capteur mesurée pour le Dinocap). Ces observations suggèrent que les concentrations atmosphériques des pesticides mesurées à des endroits et des instants donnés ne sont pas représentatives de l'exposition effective des hommes aux pesticides et confirment l'intérêt des analyses de cheveux pour mettre en évidence l'exposition humaine effective aux pesticides. Même si l'Azoxystrobine et le Cyprodinil ont été absents ou presque absents dans l'air, les analyses de cheveux ont permis de constater que 12 des 18 volontaires ayant participé à l'étude ont eu une exposition à ces pesticides. Les concentrations des pesticides non-organochlorés mesurées dans cette étude sont dans le même ordre de grandeur que celles décrites dans d'autres études. Pourtant, le nombre des études ayant étudié les pesticides non-organochlorés dans les cheveux est très restreint. Dans une étude de deux cas d'intoxication aiguë au Carbofuran et à l'Alachlore publiée par Dulaurent et al. (2008), des concentrations en Alachlore de 12 à 136 pg/mg et en Carbofuran de 207 pg/mg ont été mesurées. Ces concentrations sont dans le même ordre de grandeur que les concentrations mesurées dans cette étude-ci pour les pesticides agricoles détectés (0,3 – 1161,1 pg/mg). Dans une autre étude récemment publiée, Tsatsakis et al. (2010) ont recherché 50 pesticides organophosphorés dans les cheveux de personnes exposées et non-exposées (agriculteurs et population générale), dont le Dichlorvos, recherché mais non-détecté dans cette étude-ci. Les concentrations que Tsatsakis et al. (2010) ont mesurées ont varié entre 20,8 pg/mg et 995,3 pg/mg pour la population exposée et entre 21,3 et 471,3 pg/mg pour la population non-exposée, ce qui est encore une fois dans le même ordre de grandeur que les concentrations mesurées dans cette étude.

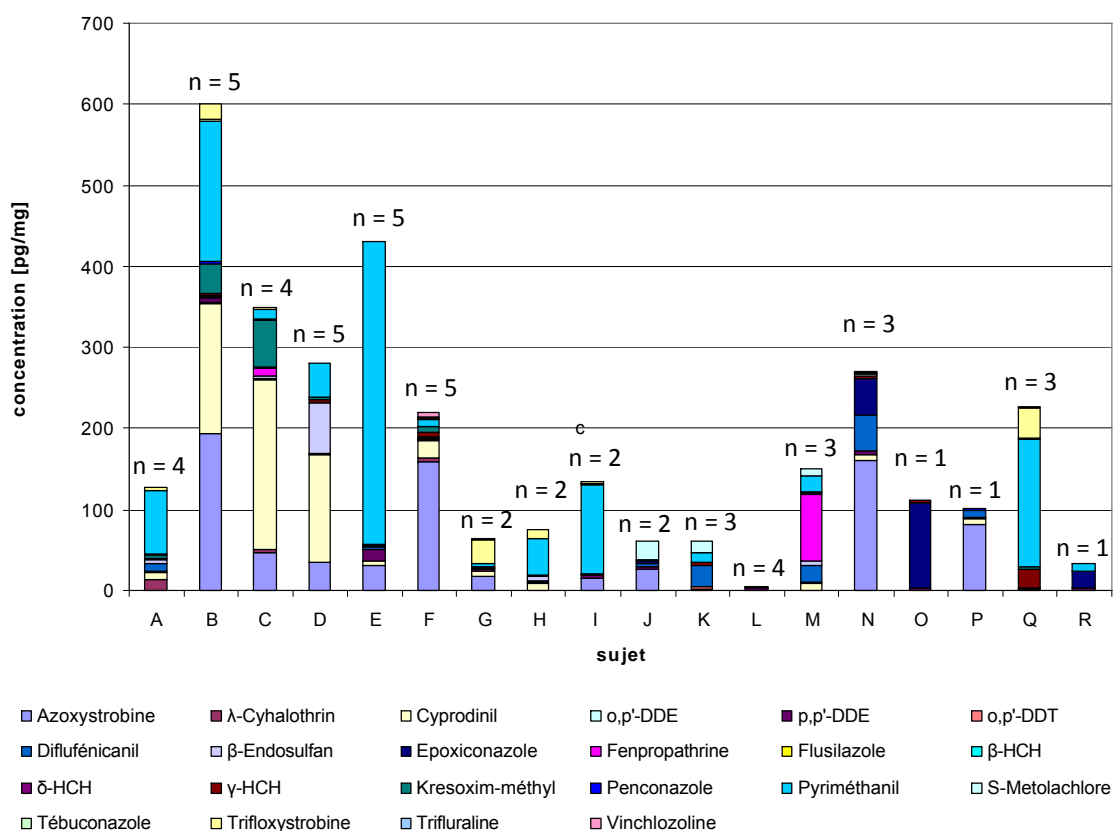
#### **III.2.2.2.1. Variations des concentrations en fonction des personnes**

Il a été étudié si les analyses de cheveux permettent de mettre en évidence des différences dans l'exposition individuelle aux pesticides. Pour ceci, les concentrations moyennes de chaque pesticide ont été calculées pour chaque sujet et des tests de comparaison des moyennes ont été faits sur ces valeurs. Les concentrations moyennes par composé et par sujet ainsi que les valeurs P des comparaisons des moyennes sont données dans le tableau III.10. Seuls les pesticides qui ont été détectés à des concentrations >LQ auprès d'au moins deux personnes ont été considérés pour ces calculs.

**Tableau III.10 :** Concentrations moyennes par composé et par sujet, et valeurs P des tests de comparaison des moyennes

pesticide	Sujet																P		
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P		Q	R
Azoxystrobine	-	193,8	74,64	34,3	30,99	159,1	17,2	-	15,2	25,60	-	-	-	161,3	-	82,60	-	-	0,648
λ-Cyhalothrine	14,7	-	2,36	-	-	5,69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,898
Cyprodinil	7,28	161,3	209,7	133,6	5,64	20,62	6,49	9,20	-	-	-	8,74	6,07	-	6,73	-	-	-	0,121
o,p'-DDE	-	0,32	0,38	0,80	0,31	0,60	0,26	-	-	-	-	-	-	0,32	0,25	-	0,37	-	0,66
p,p'-DDE	1,74	6,54	1,13	1,31	12,82	2,12	2,59	0,76	2,89	3,99	2,01	2,80	1,48	4,28	2,65	1,32	1,78	3,46	<0,001
o,p'-DDT	1,13	0,85	-	-	-	-	-	0,67	-	-	3,00	-	-	0,78	-	-	-	-	0,607
Diflufenicanil	8,69	-	-	-	5,04	2,96	-	1,62	-	4,22	27,1	0,52	21,4	43,1	-	8,52	-	-	0,395
β-Endosulfan	4,11	-	4,26	63,05	-	-	-	4,41	-	-	-	-	5,75	-	-	-	-	-	0,247
Epoxiconazole	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,76	-	-	-	45,9	105,7	-	-	21,1	0,8
Fenprothrine	-	-	9,41	-	-	-	2,21	-	-	-	-	-	81,9	-	-	-	-	-	0,742
Flusilazole	-	0,64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,42	0,30	-	-	-	-	0,457
β-HCH	-	1,44	-	-	1,62	-	-	-	-	1,24	-	-	-	-	-	-	-	-	0,678
δ-HCH	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,07	-	0,564
γ-HCH	1,83	2,30	0,81	3,02	1,71	3,82	1,46	0,44	2,08	1,18	2,59	0,50	0,98	2,83	2,68	0,78	22,02	-	0,019
Kresoxim-m.	4,47	35,89	58,29	3,46	-	7,15	-	-	-	-	-	-	-	0,34	-	-	2,63	-	0,625
Penconazole	1,41	2,89	1,40	-	-	-	-	1,24	-	-	-	-	-	-	-	1,97	-	-	0,161
Pyriméthanil	77,8	173,5	11,55	42,21	372,3	9,72	2,48	46,5	110,2	-	11,80	-	19,4	-	-	-	157,1	7,82	0,503
S-Metolachlore	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21,9	14,52	-	8,52	-	-	-	-	-	0,845
Tébuconazole	0,46	1,36	-	-	-	1,82	-	-	1,15	-	-	1,79	-	2,22	-	-	1,75	-	0,511
Trifloxystrobine	4,37	19,46	1,72	-	0,72	0,97	30,1	9,42	1,09	-	-	-	-	2,17	-	-	37,21	-	0,14
Trifluraline	-	0,32	-	-	0,21	0,17	0,16	-	-	-	-	-	-	0,35	0,15	-	0,33	-	0,445
Vinchlorzoline	-	-	-	-	-	4,44	0,75	-	0,88	-	-	-	-	-	-	-	1,12	-	0,283

Des différences statistiquement significatives n'ont été observées que pour le p,p'-DDE (P<0,001) et le  $\gamma$ -HCH (P = 0,019), deux pesticides particulièrement lipophiles. Pour tous les autres composés, les différences entre les concentrations moyennes par sujet ont été trop faibles pour pouvoir exclure la possibilité que ces différences soient dues à un échantillonnage au hasard. Une raison possible à la non-identification de différences statistiquement significatives pour ces pesticides pourraient être les faibles fréquences de détection de ces pesticides (22,6 % et 27,4 % pour l'Azoxytrobine et le Pyriméthanil respectivement, contre 66,1 % et 80,6 % pour le  $\gamma$ -HCH et le p,p'-DDE respectivement). Pourtant, les variations dans le nombre de pesticides différents détectés dans les cheveux des différentes personnes suggèrent l'existence de différences dans l'exposition individuelle. Ainsi, 14 pesticides différents ont été détectés dans les cheveux du sujet B contre uniquement 3 pesticides différents détectés dans les cheveux du sujet R. Pour approfondir cette observation, il a été envisagé d'étudier les variations entre les personnes en représentant la dispersion des pesticides par sujet sous forme graphique (figure III.9).



**Figure III.9 :** Concentrations moyennes par personne des pesticides détectés dans les cheveux des 18 volontaires (n = nombre d'échantillons de cheveux)

Dans les cheveux des sujets A, E, I et Q, le pesticide dominant est le Pyriméthanil, alors que ce pesticide n'a pas été détecté dans les cheveux des sujets J, L, N, O et P. Le Pyriméthanil est un fongicide qui est appliqué avant tout sur les fruits, dont aussi les raisins. Les sujets J, L, N, O et P sont des agriculteurs qui cultivent des céréales, maïs et colza, alors que les sujets A, E, I et Q où le Pyriméthanil a été détecté, sont tous des viticulteurs qui peuvent être en contact avec cette substance. Une observation similaire a été faite pour le Cyprodinil. Ce pesticide est également un fongicide appliqué sur les vignes, ce qui explique les fortes concentrations mesurées dans les cheveux des sujets B, C et D (des viticulteurs) et l'absence chez les sujets J, K, L et R (des agriculteurs). Pourtant, de faibles concentrations de ce fongicide ont été mesurées dans les cheveux des sujets M, N et P qui ne cultivent pas de raisins, mais ont dû avoir un contact avec ce composé. L'Azoxystrobine, le troisième pesticide qui a été détecté à des concentrations élevées chez plusieurs sujets, est un fongicide utilisé à la fois sur les vignes et sur les céréales, ce qui explique sa détection chez des personnes des deux groupes.

Une autre observation est que la somme des concentrations moyennes totales diffère fortement d'un sujet à l'autre. Ainsi, pour les sujets G, H, J, K, L et R, les sommes des concentrations moyennes sont en-dessous de 100 pg/mg pendant que, pour certains autres sujets, elles montent jusqu'à 430 pg/mg (sujet E) voire 600 pg/mg (sujet B). Si, pour le sujet E ceci est dû avant tout à une forte concentration en Pyriméthanil, la somme des concentrations moyennes chez le sujet B est élevée à cause de concentrations élevées en Azoxystrobine, en Cyprodinil et en Pyriméthanil. Il est intéressant de noter dans ce contexte que les sujets B et E travaillent dans une même exploitation viticole, le sujet E étant l'ouvrier qui y effectue la majorité des épandages de pesticides pendant que le sujet B est le propriétaire du domaine viticole et travaille avant tout dans les caves et dans son bureau et non pas dans les vignobles. Le sujet B a quand même des expositions importantes aux différents pesticides, voire même plus élevées que celles du sujet E qui fait les épandages. Une raison possible pour l'exposition plus élevée du sujet B est que les concentrations en pesticides soient particulièrement élevées dans les locaux de l'exploitation viticole à cause d'un mauvais stockage des produits ou d'une contamination des locaux. Ceci pourrait être examiné en analysant l'air ambiant dans les locaux du domaine, par exemple avec un capteur passif, les analyses de cheveux seules ne fournissant pas assez d'informations pour trancher sur l'origine de l'exposition élevée constatée.

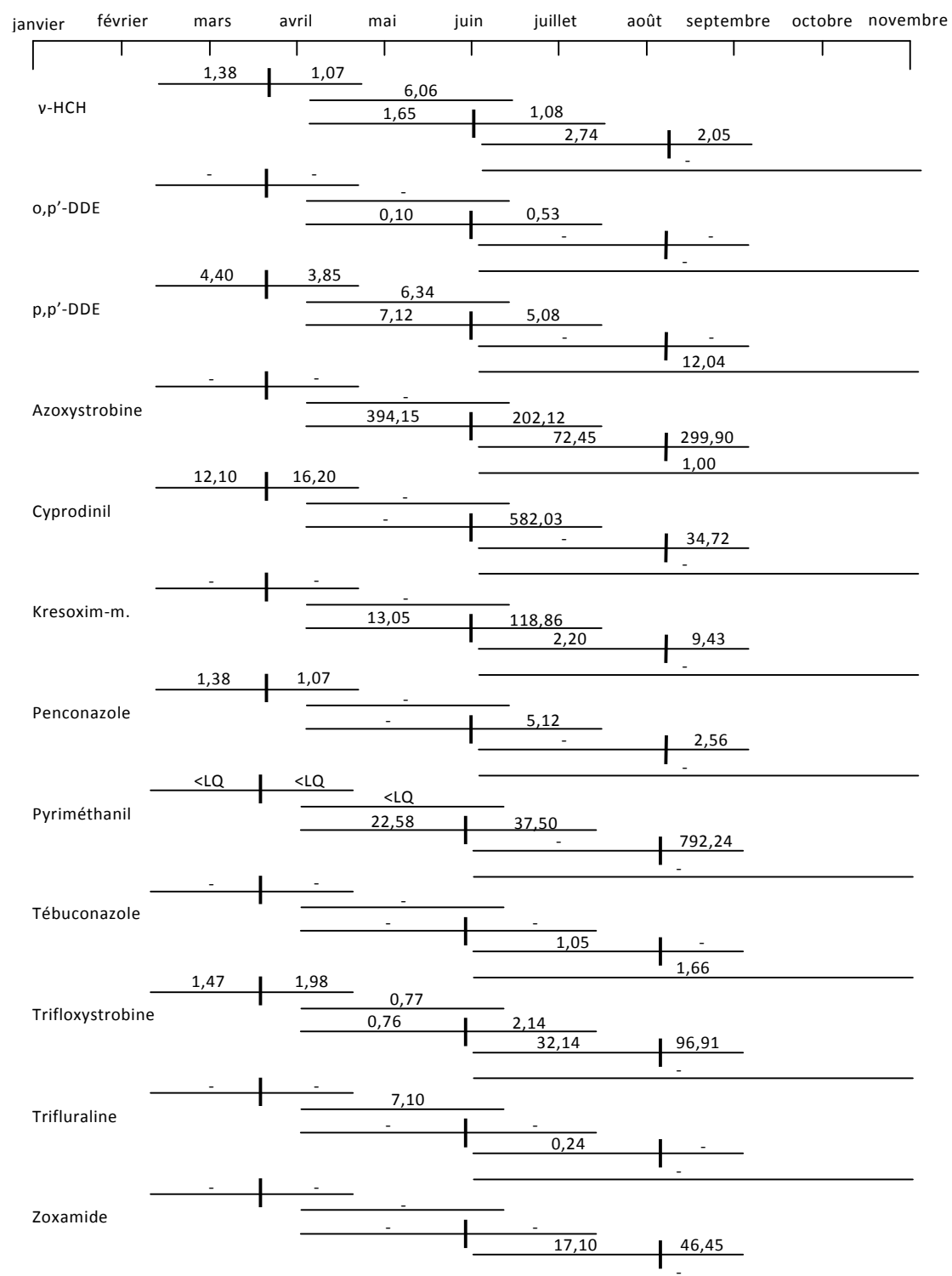
### **III.2.2.3. Evaluation de l'intérêt des cheveux pour mettre en évidence**

#### **l'historique d'une exposition aux pesticides**

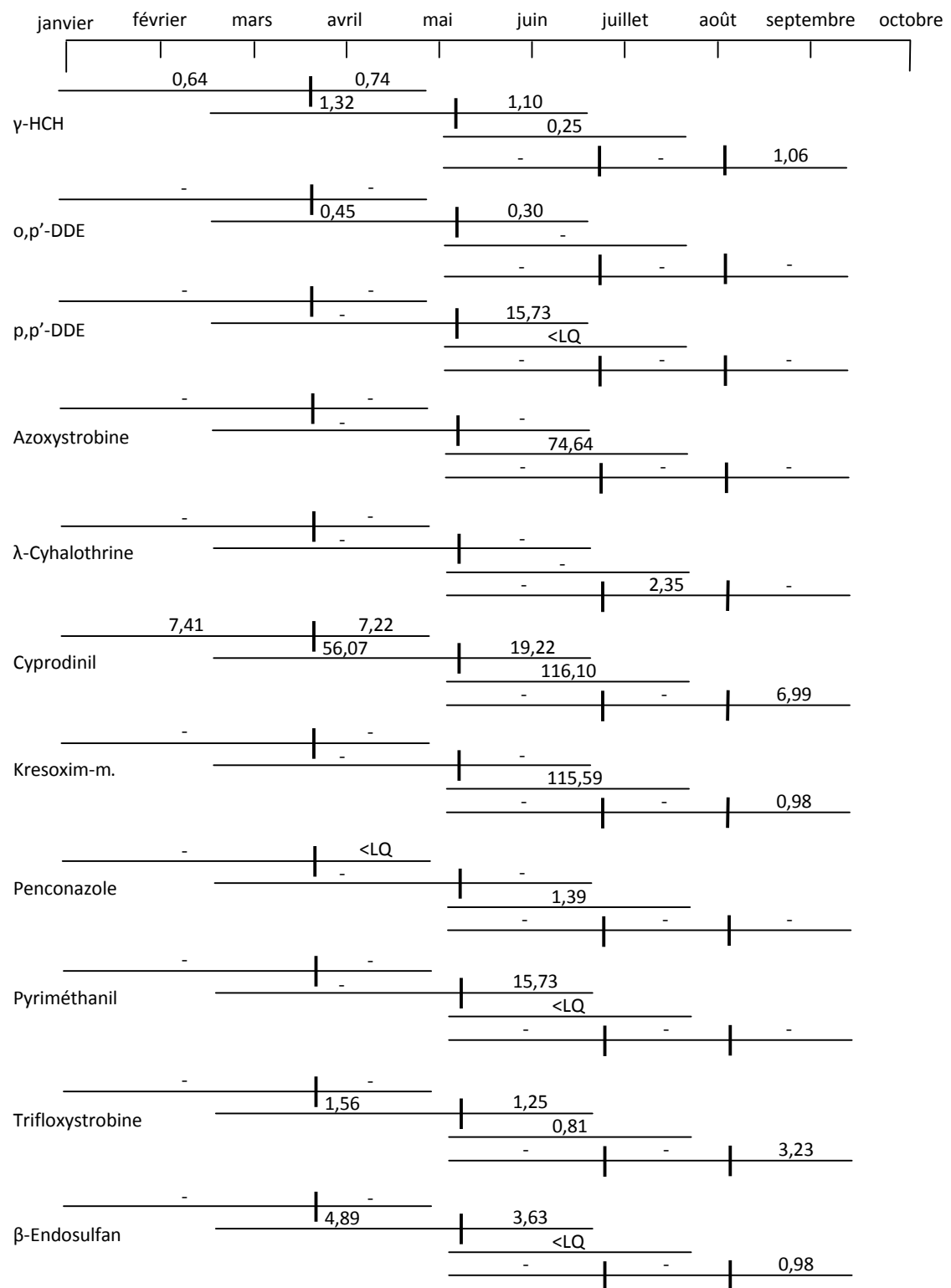
Deux approches différentes ont été adoptées pour étudier les possibilités de mettre en évidence l'historique d'une exposition aux pesticides à l'aide d'analyses de cheveux : la segmentation des échantillons de cheveux et l'étude des variations temporelles à l'aide de prélèvements répétés auprès des 18 volontaires.

##### **III.2.2.3.1. Segmentation des échantillons de cheveux de deux personnes**

La segmentation d'échantillons de cheveux s'est confirmée comme étant bien adaptée au retraçage de consommations de substances comme l'alcool (Appenzeller et al., 2007b) ou les amphétamines (Ferreira Martins et al., 2007), ou pour vérifier la désintoxication du corps humain après intoxication aiguë aux pesticides (Dulaurent et al., 2008). Ainsi, il a été décidé d'étudier si cette technique permet également de retracer une exposition chronique aux pesticides. Pour ceci, les mèches de cheveux prélevées auprès de deux volontaires (sujets B et C) ont été segmentées. Huit segments ont été obtenus pour chacun des deux sujets, couvrant la période de mi-février à fin novembre (sujet B) et début janvier à mi-septembre (sujet C), donc la totalité de la période pendant laquelle les pesticides sont appliqués sur les vignes. Les segmentations et les concentrations trouvées pour chaque pesticide auprès de chaque personne sont données dans les figures III.10.a (sujet B) et III.10.b (sujet C).



**Figure III.10.a :** Segmentation des échantillons de cheveux du sujet B et concentrations des pesticides détectés dans les différents segments (en pg/mg). Les traits sur l'échelle de temps marquent le début du mois respectif.



**Figure III.10.b :** Segmentation des échantillons de cheveux du sujet C et concentrations des pesticides détectés dans les différents segments (en pg/mg). Les traits sur l'échelle de temps marquent le début du mois respectif.



Aucun pesticide n'a été détecté dans tous les segments d'une même personne, suggérant que l'exposition à aucun pesticide n'a été permanente tout au long de la période couverte par l'observation des cheveux de ces deux volontaires. Le plus grand nombre de pesticides a été détecté dans le segment 5 (9 pesticides différents) couvrant les périodes de début juin à mi-juillet (sujet B) respectivement début mai à mi-juillet (sujet C). Ceci est en accord avec les analyses d'air réalisées dans la partie III.1. de ce chapitre (voir figure III.5 page 123), où la majorité des pesticides a également été détectée en juillet. Lors de la comparaison de segments couvrant les mêmes périodes auprès de la même personne, des différences notables peuvent être observées. Ci-dessous quelques exemples :

- Les segments 3 et 4 du sujet B couvrent des périodes de temps similaires (début avril – mi-juin pour le segment 3 et début avril – début juin pour le segment 4). Le segment 3 couvrant ainsi la totalité de la période de croissance du segment 4, les concentrations des pesticides mesurées dans le segment 4 devraient être similaires à celles mesurées dans le segment 3. Cependant, l'Azoxystrobine a été mesurée à 394,15 pg/mg dans le segment 4 mais a été absente dans le segment 3. En supposant que les concentrations de pesticides dans les cheveux ne changent pas après l'échantillonnage si les cheveux sont conservés dans de l'aluminium et stockés dans l'obscurité, l'absence de l'Azoxystrobine dans le segment 3 ne peut pas être le résultat d'une dégradation de ce pesticide. Ceci suggère que l'Azoxystrobine dans le segment 4 a été incorporée à une période où le segment 3 était déjà prélevé, donc entre mi-juin et mi-juillet quand la mèche complète (segments 4 et 5) a été prélevée. L'incorporation de l'Azoxystrobine ne peut donc pas avoir eu lieu par la voie biologique (passage du sang à la racine dans le cortex du cheveu, voir § I.1.2.2. page 15), soit la voie préconisée par la majorité des scientifiques, mais confirmerait plutôt l'hypothèse que l'incorporation de polluants organiques présents dans l'atmosphère se fait aussi par infiltration de dépôts à la surface des cheveux (Ostrea et al., 2006 ; Zhang et al., 2007 ; Tsatsakis et al., 2009).

- Toujours dans le segment 4 du sujet B, les concentrations du Pyriméthanil et du Kresoxim-méthyl ont été de 22,58 et 13,05 pg/mg respectivement, alors que, dans le segment 3, ils n'ont été détectés qu'à des concentrations < LQ pour le Pyriméthanil (donc < 10 pg/mg) ou non-détectables pour le Kresoxim-méthyl (donc < 0,01 pg/mg). Les

explications en sont les mêmes que celles concernant l'absence de l'Azoxytrobine dans le segment 3. La possibilité de l'apparition du Kresoxim-méthyl dans les cheveux suite à une contamination externe explique aussi certaines observations faites dans la partie sur l'évaluation de l'intérêt d'une étape de lavage des cheveux avant analyse, où des cheveux ont été exposés dans une chambre de simulation atmosphérique contenant de l'air contaminé en pesticides (III.2.1.4. page 131). Rappelons que certains pesticides absents dans les cheveux avant leur exposition à l'air contaminé (p.ex. Kresoxim-méthyl, Vinchlozoline, Cyprodinil) n'ont pas pu être enlevés des cheveux, même après trois cycles de lavage. Il serait ainsi possible que ces pesticides se soient déposés sur les cheveux et qu'une partie de ce dépôt ait été infiltrée dans les cheveux ou se soit fixée de façon irréversible sur les cheveux.

- Dans les segments 5, 6 et 7 du sujet C, l'inverse a été observé : le segment 5, couvrant la période de début mai à mi-juillet a présenté une concentration en Cyprodinil de 1161,10 pg/mg, alors que ce pesticide n'a pas été détecté (donc < 0,1 pg/mg) dans les segments 6 et 7 couvrant des périodes de croissance respectives de début-mai à mi-juin et de mi-juin à fin juillet, donc la totalité du segment 5. Dans le segment 8 couvrant la période de début août à mi-septembre et ayant été prélevé au même moment que les segments 6 et 7, le Cyprodinil a de nouveau été détecté (6,99 pg/mg). Ces observations suggèrent que le sujet C avait une exposition importante au Cyprodinil entre début mai et mi-juillet, quand les segments 6 et 7 ont déjà été présents sur le cuir chevelu. A cette période-là, les segments 6 et 7 ont donc très probablement été positifs au Cyprodinil. Pourtant, vu que le Cyprodinil n'a pas été détecté dans les segments 6 et 7 (et 8), ce pesticide a probablement été enlevé ou s'est dégradé après la mi-juillet quand le segment 5 a été prélevé, mais que la mèche contenant les segments 6, 7 et 8 a encore été sur le cuir chevelu du sujet C. Ostrea et al. (2006) ont décrit des observations suggérant que la concentration de certains pesticides (p.ex. la Bioalléthrine) puisse être altérée par le lavage régulier des cheveux au shampoing. D'autres possibilités pour la disparition du Cyprodinil seraient des dégradations causées par le soleil ou le vent, comme il a été proposé avant dans la section sur l'évaluation du lavage des cheveux (§ III.2.1.4. page 131) pour expliquer la diminution du Pyriméthanil observée après l'exposition des cheveux dans la chambre de simulation atmosphérique. Tout ceci pourrait expliquer pourquoi le Cyprodinil n'a pas été détecté dans les segments 6 et 7, mais

n'explique pas pourquoi il a de nouveau été détecté dans le segment 8 prélevé au même moment que les deux autres. Avec les données disponibles à cet instant, aucune explication satisfaisante ne peut être donnée pour expliquer la présence du Cyprodinil dans le segment 8.

- Des observations similaires à celles décrites ci-dessus ont été faites pour les concentrations de Cyprodinil et de Pyriméthanil dans les segments 7 et 8 du sujet B : le segment 8 couvre complètement la période de croissance du segment 7. Pourtant, dans le segment 7, la concentration du Cyprodinil a été de 34,72 pg/mg alors qu'il n'a pas été détecté dans le segment 8. Le Pyriméthanil a été mesuré à une concentration de 792,24 pg/mg dans le segment 7 et n'a pas été détecté dans le segment 8. Ceci suggère que ce pesticide se soit dégradé ou ait été enlevé des cheveux du sujet B après échantillonnage du segment 7, donc après la mi-septembre.

- Ces observations n'ont cependant pas été faites exclusivement pour les pesticides effectivement appliqués en agriculture et viticulture, mais aussi pour le p,p'-DDE, métabolite du p,p'-DDT qui n'est plus utilisé dans l'agriculture depuis les années 1970. La concentration du p,p'-DDE dans le segment 8 du sujet B (début juin à début novembre) a été de 12,04 pg/mg alors que ce pesticide n'a pas été détecté dans les segments 6 et 7 couvrant la période de début juin à début septembre. Il est ainsi fortement probable que les sujets B et C aient eu une exposition élevée au p,p'-DDE (ou au p,p'-DDT) à un moment donné dans cette période. Cette exposition ne doit pas forcément provenir d'une application du p,p'-DDT. En effet, les deux composés p,p'-DDE et p,p'-DDT sont toujours identifiés dans l'air et sur les champs à cause de résidus des applications importantes dans les années 1950 et 1960, et l'exposition à ce pesticide pourrait bien avoir eu lieu lors du travail dans les vignobles et le contact avec des résidus de pesticides en décollant. La même observation a été faite en analysant les segments 4 et 5 du sujet C, le segment 5 couvrant la totalité de la période de croissance du segment 4. Dans le segment 4, la concentration du p,p'-DDE a été de 15,73 pg/mg pendant que, dans le segment 5, elle a été inférieure à la limite de quantification (0,1 pg/mg). Le p,p'-DDE n'a été détecté dans aucun des autres segments de ce sujet. En se basant sur les argumentations précédentes, ce sujet doit avoir eu une

exposition importante au p,p'-DDE (ou au p,p'-DDT) pendant la période couverte par le segment 4 (début mai à mi-juin).

Les observations décrites ci-dessus indiquent que les concentrations des pesticides dans les cheveux sont fortement influencées par des paramètres externes comme des dépôts de pesticides ou le lavage des cheveux. Ces paramètres sont difficilement contrôlables et pourraient influencer les estimations de l'historique des expositions. Néanmoins, les résultats décrits ici attestent aux cheveux un certain effet mémoire qui permet d'informer sur des expositions passées, mais, comme les concentrations risquent d'être altérées par des effets externes pouvant augmenter ou diminuer les concentrations dans les cheveux, l'effet mémoire se limite à une période relativement courte.

Les informations sur des expositions passées obtenues par des analyses de cheveux ne sont donc fiables que sur une période relativement courte. Pour mettre en évidence l'historique d'une exposition aux pesticides à l'aide d'analyses de cheveux, il est préférable de ne considérer que le segment proche du crâne, les segments distants étant trop influencés par des paramètres externes difficilement contrôlables et l'interprétation des informations obtenues devenant critique pour cette raison.

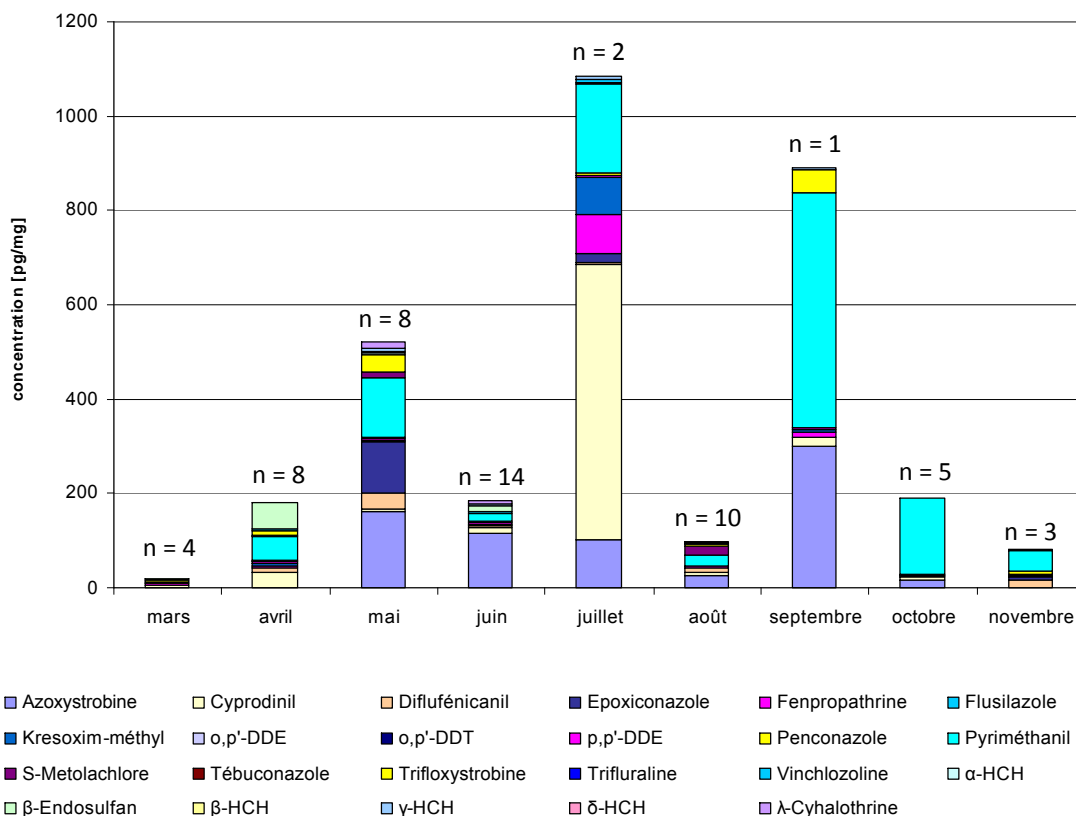
#### **III.2.2.3.2. Variations des concentrations dans les cheveux en fonction du temps**

Vu les conclusions du paragraphe précédent, uniquement le segment proximal a été analysé dans cette partie de l'étude, sous condition que l'échantillon de cheveux prélevé ait été assez grand pour permettre de le partager. Les variations des concentrations en fonction du temps ont été étudiées en comparant les moyennes mensuelles de chaque pesticide dans les cheveux des 18 sujets confondus. Les concentrations moyennes par composé et par mois ainsi que les valeurs P des comparaisons des moyennes sont données dans le tableau III.11. Seuls les pesticides qui ont été détectés à des concentrations >LQ dans au moins deux mois différents ont été considérés pour étudier les variations temporelles.

**Tableau III.11 :** Concentrations moyennes par mois et par composé, écart-types des moyennes et valeurs P des comparaisons des moyennes mensuelles.

pesticide	mars	avril	mai	juin	juillet	août	septembre	octobre	novembre	écart-type	P
Azoxystrobine	-	-	161,40	115,80	102,03	25,59	299,89	16,20	-	104,02	0,160
λ-Cyhalothrine	-	-	14,72	5,68	-	-	-	-	-	6,39	1,000
Cyprodinil	6,46	34,33	6,91	12,97	584,30	8,47	20,77	7,91	-	201,87	0,276
o,p'-DDE	0,59	0,26	0,31	0,51	0,32	-	-	-	0,18	0,16	0,298
p,p'-DDE	2,16	2,47	2,53	3,03	4,12	2,80	1,63	2,01	5,40	1,17	0,989
o,p'-DDT	0,65	0,85	1,60	-	-	-	-	0,66	0,78	0,40	0,406
Diflufenicanil	-	9,63	34,03	4,03	2,27	7,81	-	-	14,94	11,62	0,456
β-Endosulfan	3,47	54,95	5,25	12,12	-	-	-	-	-	24,29	0,629
Epoxiconazole	-	-	107,64	2,75	19,94	-	-	-	9,14	49,03	0,467
Fenpropathrine	-	2,21	-	-	81,89	-	9,41	-	-	44,07	1,000
Flusilazole	-	-	0,29	-	1,03	-	-	-	-	0,52	0,500
α-HCH	-	-	1,40	-	0,93	1,63	-	-	-	0,36	1,000
β-HCH	-	1,61	-	1,23	1,43	-	-	-	-	0,19	1,000
γ-HCH	1,50	1,43	5,50	2,61	4,21	1,30	1,56	-	1,39	1,59	0,864
δ-HCH	0,38	-	-	-	-	2,07	-	-	-	1,20	1,000
Kresoxim-m.	-	5,73	2,47	-	79,30	-	6,32	-	-	37,27	0,336
S-Metolachlore	-	-	11,49	-	-	21,86	-	-	-	7,33	0,667
Penconazole	1,38	1,67	1,43	1,96	3,26	-	2,56	-	-	0,74	0,726
Pyriméthanal	21,72	52,38	126,00	15,73	188,74	20,40	498,00	162,00	42,20	154,21	0,324
Tébuconazole	-	1,83	1,74	-	1,77	-	-	-	1,94	0,09	0,956
Trifloxystrobine	3,49	10,74	36,19	0,85	2,00	2,74	50,07	1,09	0,78	18,25	0,113
Trifluraline	0,27	0,15	0,27	0,22	0,23	-	-	-	0,24	0,04	0,930
Vinchlozoline	1,04	1,76	-	3,80	5,17	-	-	-	-	1,89	0,476

Aucune différence statistiquement significative n'a été identifiée, mais certains écart-types très élevés (> 100 pour Azoxystrobine, Cyprodinil et Pyriméthanal) suggèrent que des variations existent et que les nombres de détections des différents pesticides par mois ont été insuffisants pour montrer des différences statistiquement significatives entre les moyennes. Ainsi, il a été décidé d'étudier les variations temporelles en faisant une représentation graphique des moyennes mensuelles des pesticides détectés dans les cheveux des 18 volontaires (figure III.11).



**Figure III.11 :** Moyennes mensuelles des pesticides détectés dans les cheveux des 18 volontaires. (n = nombre d'échantillons de cheveux)

La somme des concentrations moyennes des pesticides dans les cheveux a augmenté de mars à juillet et a diminué par après. Pourtant, cette évolution n'a pas été continue, vu que les concentrations moyennes dans les cheveux en juin et en août ont été très faibles. Une explication raisonnable n'a pas pu être avancée pour expliquer cette observation, mais il est intéressant de noter que les concentrations de ces mois ont été calculées sur beaucoup plus de personnes que les autres mois, comme 14 et 10 échantillons ont été disponibles pour les mois de juin et août pendant qu'uniquement 2 et 1 échantillons ont été disponibles pour les mois de juillet et septembre. Il ne peut donc pas être exclu que le faible nombre d'échantillons disponibles pour ces deux mois ait biaisé la concentration moyenne calculée.

L'évolution générale des concentrations de pesticides dans les cheveux est comparable à celle observée pour les variations en fonction du temps des concentrations en pesticides sur les capteurs passifs (voir § III.1.4.2 page 122). Pourtant, les différents pesticides n'ont pas tous été détectés aux mêmes moments dans les cheveux et sur les capteurs. Ainsi, la concentration en Cyprodinil dans les cheveux a été maximale en juillet alors que, sur les

capteurs, elle a été très faible dans cette période. De même, le Diflufénicanil a été détecté dans les cheveux aux mois d'avril, mai, août et novembre et sur les capteurs surtout au mois de juillet, et la Trifloxystrobine a été détectée dans les cheveux en mai et en septembre et sur les capteurs en juillet et en octobre, donc plus tard. Ceci confirme que les concentrations atmosphériques ne sont pas toujours représentatives de l'exposition humaine aux pesticides.

Des variations en ce qui concerne le profil des pesticides détectés dans les cheveux ont aussi été constatées. Ainsi, en juillet il y a eu majoritairement des détections de Cyprodinil, de Kresoxim-méthyl et de Fenpropathrine, pendant qu'en septembre, les pesticides détectés majoritairement ont été l'Azoxystrobine et le Pyriméthanil et en mai l'Epoxiconazole et la Trifloxystrobine, ce qui est en accord avec l'évolution de la saison de traitement (cf. § III.1.4.2. page 122). Les analyses de cheveux permettent donc de mettre en évidence des variations en fonction du temps de l'exposition humaine aux pesticides. L'exposition de personnes étant au contact avec des pesticides par l'exercice de leur profession augmente globalement avec l'augmentation de l'intensité des épandages sur les champs, mais le fait que cette exposition soit fortement influencée par de nombreux facteurs difficilement contrôlables (voir les observations et conclusions des sous-chapitres § III.2.2.2.1. page 144 et § III.2.2.3.1. page 148) suggère de ne pas se baser uniquement sur de telles tendances générales, mais d'étudier l'exposition des personnes individuellement.

### **III.2.3. Conclusions**

Les résultats de cette étude suggèrent que les analyses des pesticides dans les cheveux permettent de mettre en évidence l'exposition humaine aux pesticides. Toutes les personnes testées ont eu une exposition chronique au p,p'-DDE et au  $\gamma$ -HCH, mais, en ce qui concerne les autres pesticides, surtout les pesticides utilisés actuellement dans l'agriculture, des différences considérables dans l'intensité de l'exposition aux pesticides ont pu être observées. Les détections de pesticides les plus élevées (Pyriméthanil, Cyprodinil, Azoxystrobine) ont été en accord avec les applications spécifiques de pesticides sur les plantes cultivées par les personnes respectives. Pourtant, il semble que les épandages ne soient qu'une des voies d'exposition aux pesticides possibles, et que l'exposition soit influencée par des facteurs externes. La présence de pesticides dans les cheveux est la

somme de plusieurs composantes (incorporation, contamination externe et dégradation) et l'interprétation des résultats doit se faire avec prudence en tenant compte de chacun de ces paramètres. La présence d'un pesticide dans les cheveux confirme que le sujet respectif a eu une exposition à ce pesticide, et la concentration de ce pesticide dans le segment proximal permet de faire des estimations sur l'intensité de cette exposition. Pourtant, l'absence d'un pesticide dans les cheveux ne permet pas de dire que ce sujet n'a pas été exposé à ce pesticide, parce qu'une non-détection d'un pesticide dans les cheveux peut avoir d'autres raisons. Pour limiter de telles influences sur les concentrations mesurées, il est conseillé de ne considérer que le segment proximal dans les analyses.



### III.3. Conclusions générales du chapitre III

Deux approches ont été adoptées pour évaluer l'exposition humaine aux pesticides : les analyses d'air à l'aide de capteurs passifs et les analyses de cheveux. Les deux outils se sont montrés adaptés à leur utilisation respective : les capteurs passifs ont permis de mettre en évidence des différences dans la contamination de l'atmosphère sur différents sites, et les cheveux ont permis d'informer sur l'intensité de l'incorporation de pesticides par une personne. De plus, un certain effet mémoire a pu être attribué aux cheveux, permettant d'obtenir des informations sur des expositions ayant eu lieu dans un passé récent. Pourtant, les capteurs passifs ne peuvent pas informer sur la dose en pesticides incorporée par l'homme, ce qui est compensé par les analyses de cheveux qui montrent l'incorporation réelle en pesticides et ceci sur l'axe du temps. En opposition, les analyses des cheveux ne permettent pas d'attribuer des expositions de l'homme à des sources précises, ce qui est compensé par les analyses d'air à l'aide de capteurs passifs pouvant aider à les identifier en informant sur les variations de la contamination atmosphérique en pesticides en fonction du site de prélèvement et du temps.

La combinaison des deux techniques présente un outil très puissant, informant assez complètement sur l'exposition humaine aux pesticides. Néanmoins, les deux techniques doivent être affinées et leur développement doit être poursuivi. Des essais de calibration des capteurs passifs doivent être faits pour déterminer le volume d'air analysé et pour mieux comprendre les mécanismes d'adsorption des pesticides sur la résine. En ce qui concerne les analyses de cheveux, il faut élargir les connaissances sur les mécanismes d'incorporation en essayant de déterminer la participation respective de chacun des facteurs incorporation, contamination externe et dégradation, et comprendre les phénomènes externes altérant les concentrations des pesticides dans les cheveux. Pour ceci, la méthode développée ici doit être appliquée sur une plus large échelle avec des prélèvements de cheveux faits à des intervalles réguliers et plus courts et en ne considérant que le segment proximal des cheveux. Les quantités d'informations et de valeurs ainsi obtenues vont augmenter les données de référence, ce qui aidera à identifier davantage des relations statistiquement significatives et à concrétiser les tendances et relations déjà observées dans la présente étude.

## **Chapitre IV : Conclusions et perspectives**

## IV.1. Conclusions

Les objectifs de ce travail de thèse ont été de proposer une première approche combinée d'« Ambient Biomonitoring » (ABM) à l'aide d'échantillonnages passifs d'air et de « Human Biomonitoring » (HBM) à l'aide d'analyses de cheveux, pour obtenir une évaluation très complète de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides.

- Les conclusions sur la partie ABM

Les objectifs de cette étude ont été l'évaluation de l'intérêt de l'échantillonnage passif d'air dans le biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides, dans l'optique d'obtenir des informations sur le niveau de contamination de l'atmosphère et les variations de celle-ci en fonction du site de prélèvement et du temps. Les acquis de cette étude et les recherches supplémentaires qui seront nécessaires sont résumés dans le tableau IV.1 page 163).

**Tableau IV.1 :** Les acquis de ces travaux de thèse en ce qui concerne l'ABM de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides et les limitations de ces acquis à l'heure actuelle

Acquis de ces travaux de thèse	Recherches supplémentaires nécessaires
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Possibilité de prélever facilement des HAPs et des pesticides atmosphériques avec un outil utilisable sur tous les sites, indépendamment d'éventuelles restrictions liées à la disponibilité d'une alimentation électrique ou à l'encombrement de l'appareil.</li> <li>- Prélèvement simultané de différentes familles de molécules organiques (HAPs, OH-HAPs, pesticides) avec un seul capteur passif.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Amélioration de l'extraction des capteurs afin d'augmenter les rendements de certains composés (p.ex. des OH-HAPs, de certains pesticides comme l'Azoxystrobine, le Tétraconazole, etc.).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mise en évidence des variations spatiales des concentrations atmosphériques des HAPs et pesticides à échelle relativement petite.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Raccourcissement du rayon de la région sur laquelle peuvent être mis en évidence les variations spatiales.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Observation de variations temporelles des concentrations atmosphériques des HAPs et pesticides dans l'atmosphère de sites ayant des caractéristiques différentes (intensité du trafic, proximité aux exploitations agricoles et viticoles, nombre d'habitants, etc.).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Raccourcissement des intervalles d'exposition pour mettre en évidence les variations temporelles à des cadences encore plus courtes.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Approfondissement des connaissances sur les mécanismes d'adsorption des molécules sur les capteurs (influences supposées de la température et des caractéristiques du site d'échantillonnage).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Compréhension en détail des mécanismes d'adsorption des HAPs et pesticides sur les capteurs pour pouvoir quantifier une contamination sur un site donné et faire des comparaisons inter-site plus précises.</li> </ul>

Avec les connaissances actuelles, il est possible de faire un échantillonnage passif simultané d'HAPs, d'OH-HAPs et de pesticides avec des capteurs passifs à base de résine XAD-2. Il existe donc un outil facile à utiliser, peu cher et déployable universellement, tout en évitant les restrictions liées à l'échantillonnage actif comme l'encombrement de l'appareil et la nécessité d'une alimentation électrique. Les capteurs passifs permettent d'évaluer le niveau global de la contamination atmosphérique des polluants organiques les plus abondants et de mettre en évidence des variations de la contamination atmosphérique en ces composés en fonction du site de prélèvement et en fonction du temps. Pourtant, ces recherches doivent être continuées pour mieux comprendre les phénomènes influençant ces variations et pour étudier si les capteurs passifs XAD-2 sont également adaptés à analyser les variations de la contamination de l'air à l'intérieur de bâtiments.

Les travaux réalisés ici ont également contribué à la compréhension générale des mécanismes d'adsorption des molécules sur les capteurs passifs. Ainsi, les résultats obtenus suggèrent que l'adsorption des HAPs sur les capteurs passifs XAD-2 soit influencée par la température et des doutes sont apparus sur l'hypothèse généralement acceptée disant que les molécules s'accumulent sur les capteurs : au moins en ce qui concerne l'adsorption des HAPs sur les capteurs passifs XAD-2, l'établissement d'un équilibre dynamique entre le capteur et l'air ambiant ne peut pas être exclu. De même, il ne peut pas être exclu que les caractéristiques du site d'exposition du capteur (p.ex. accessibilité du vent) influencent les mécanismes d'adsorption des molécules. Même si ceci n'a pas pu être confirmé dans ces travaux de thèse, les observations de cette étude montrent qu'il reste un certain nombre d'inconnues quant aux mécanismes d'adsorption. L'expression des résultats en fonction d'un volume d'air est encore très hasardeuse et ne peut être qu'une estimation grossière à ce stade-ci. Au vu des points restant à élucider, les résultats de cette étude n'ont été donnés qu'en masse (ng) par capteur et non pas par volume d'air, ceci pour des raisons de rigueur scientifique.

- Les conclusions sur la partie HBM

Les objectifs du deuxième volet de ces travaux de thèse ont été de développer une méthode permettant de mettre en évidence l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides à travers des analyses de cheveux, en évitant au maximum les influences de la contamination externe. Pour le cas des pesticides, il a également été étudié si les analyses de cheveux peuvent informer sur des expositions ayant eu lieu dans le passé. Un résumé des résultats obtenus et des recherches supplémentaires nécessaires est donné dans le tableau IV.2 page 165.

**Tableau IV.2 :** Les acquis de ces travaux de thèse en ce qui concerne le HBM de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides et les limitations de ces acquis à l'heure actuelle

Acquis de ces travaux de thèse	Recherches supplémentaires nécessaires
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Identification de biomarqueurs dans les cheveux permettant de mettre en évidence l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides.</li> <li>- Différentiation entre contamination interne et externe pour les HAPs et</li> <li>- Réduction considérable du risque de contamination externe des cheveux pour les pesticides.</li> <li>- Mise en évidence de variations inter-individus dans l'exposition humaine aux pesticides et inter-groupes dans l'exposition aux HAPs, ayant permis d'identifier p.ex. le tabagisme comme habitude personnelle contribuant à l'exposition humaine aux HAPs</li> <li>- Augmentation des connaissances sur les mécanismes d'incorporation des pesticides dans les cheveux: la présence des pesticides dans les cheveux est une composante de (1) incorporation biologique, (2) infiltration des dépôts de pesticides sur les cheveux et (3) dégradation des pesticides incorporés dans les cheveux.</li> <li>- Informations sur la durée de la possibilité de retracer l'exposition aux pesticides à l'aide d'analyses de cheveux.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tous les doutes n'ont pas pu être écartés en ce qui concerne la différenciation entre contamination interne et externe pour le cas des pesticides, le dosage de métabolites biologiques n'étant pas encore possible.</li> <li>- Les populations surveillées étaient relativement petites et doivent être agrandies.</li> <li>- Il faut également étudier l'incorporation des OH-HAPs dans les cheveux et approfondir les observations obtenues dans cette étude sur les mécanismes d'incorporation des pesticides dans les cheveux.</li> <li>- Il faut délimiter avec précision la durée sur laquelle l'exposition humaine aux pesticides peut être mise en évidence à l'aide des cheveux et étudier la durée sur laquelle l'exposition humaine aux HAPs peut être mise en évidence en déterminant les OH-HAPs dans les cheveux.</li> </ul>

A l'heure actuelle, il est possible de mettre en évidence l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides à l'aide d'analyses de cheveux. Il a pu être montré qu'une partie importante de la population a une exposition chronique au naphtalène et (en ce qui concerne les agriculteurs et vignerons) au  $\gamma$ -HCH et au p,p'-DDE. Le fait de doser les OH-HAPs au lieu des HAPs et l'idée de décontaminer les cheveux avant analyse pour dégager les dépôts de pesticides, ont permis de réduire considérablement le risque d'influences de contaminations externes sur les résultats. De plus, les observations qui ont été faites dans l'étude sur le HBM de l'exposition humaine aux pesticides ont permis d'agrandir notablement les connaissances sur les mécanismes d'incorporation des pesticides dans les cheveux. Ainsi, il semble que l'incorporation des pesticides dans les cheveux soit due à une

combinaison d'incorporation biologique, d'infiltration de dépôts sur les cheveux et de dégradation des pesticides dans les cheveux. Vu qu'avec les connaissances actuelles ces paramètres sont difficilement contrôlables, il est suggéré de privilégier le segment proximal dans les analyses de pesticides dans les cheveux, les segments plus distants étant trop influencés par des paramètres externes. Néanmoins, à l'heure actuelle, il ne peut pas être dit si cela s'applique également aux autres contaminants organiques présents dans l'atmosphère. En ce qui concerne les OH-HAPs, il est possible que le risque dû à l'incorporation de dépôts sur les cheveux soit plus faible que pour les pesticides, puisqu'à part les hydroxynaphtalènes, les OH-HAPs sont quasiment absents dans l'air. Ceci explique pourquoi des dépôts notables n'ont pas pu être observés sur les cheveux. Vu ces incertitudes, il est recommandé également pour les OH-HAPs de ne considérer, à l'état actuel des connaissances, que le segment proximal dans le HBM, tout au moins jusqu'à preuve du contraire, donc jusqu'à ce que la stabilité des OH-HAPs dans les cheveux soit démontrée.

La comparaison inter-groupes qui a été faite dans l'étude sur la mise en évidence de l'exposition humaine aux HAPs a permis d'observer que les fumeurs ont une exposition plus élevée aux HAPs que les non-fumeurs (les concentrations en OH-HAPs sont plus élevées dans les cheveux des fumeurs et le 1-OH-Nap a été détecté presque exclusivement dans les cheveux des fumeurs). D'autre part, l'étude des variations inter-individus qui a été faite dans la partie sur l'exposition aux pesticides, a permis d'identifier des personnes ayant des expositions aux pesticides particulièrement élevées. Le désavantage du HBM à l'heure actuelle est que les concentrations (en OH-HAPs et en pesticides) ne permettent pas d'identifier les origines de l'exposition humaine à ces composés (cf. sujets particulièrement exposés aux pesticides), sauf s'il s'agit d'une exposition découlant des habitudes individuelles comme le tabagisme. Pour ceci, il faut compléter les analyses de cheveux par des analyses d'air, par exemple avec des capteurs passifs. Ceci confirme donc l'intérêt de combiner les analyses de l'air avec les analyses des cheveux pour obtenir un biomonitoring efficace de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides.

## **IV.2. Perspectives**

Ces travaux de thèse ont permis de faire des progrès notables dans le biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides et beaucoup de perspectives s'ouvrent à ce stade du travail. Ces perspectives peuvent être regroupées en deux grandes catégories, soit (1) les perspectives directes découlant de ces travaux de thèse, à savoir combler les lacunes regroupées dans les tableaux IV.1 page 163 et IV.2. page 165, et (2) les perspectives à moyen terme, après avoir comblé les lacunes énumérées précédemment. L'objectif final sera de relier les concentrations en HAPs et pesticides mesurées dans les cheveux à une dose incorporée, voire à un risque pour la santé.

### **IV.2.1. Perspectives directes**

Des lacunes importantes existent actuellement en ce qui concerne la compréhension précise des mécanismes d'adsorption des composés sur les capteurs passifs. Or, ceci est essentiel pour pouvoir calibrer les capteurs afin d'exprimer les quantités en polluants mesurées sur un capteur en fonction d'un volume d'air déterminé et de donner une interprétation fondée des résultats obtenus.

Des lacunes existent également en ce qui concerne les mécanismes d'incorporation des HAPs et des pesticides dans les cheveux. Une bonne connaissance de ces mécanismes est indispensable pour pouvoir interpréter valablement les concentrations mesurées. Au stade actuel, il est uniquement supposé que l'incorporation des pesticides dans les cheveux soit une composante d'incorporation biologique, d'infiltration de dépôts de pesticides sur les cheveux et de dégradation des pesticides dans les cheveux, sans que la contribution respective de chacune de ces composantes puisse être donnée. En ce qui concerne les OH-HAPs, il n'existe pratiquement aucune information sur les mécanismes d'incorporation. Les mécanismes d'incorporation aussi bien des pesticides que des OH-HAPs dans les cheveux devront être investigués dans des recherches complémentaires, en accordant une attention particulière à l'étude de la stabilité des molécules dans les cheveux, car ceci aidera à



délimiter d'une façon plus précise la durée de l'effet mémoire des cheveux. Afin d'augmenter le nombre de valeurs de référence, il faudra tâcher dans une deuxième étape de faire des campagnes d'analyses de cheveux avec un nombre plus élevé de volontaires et d'identifier davantage les habitudes personnelles pouvant avoir une influence sur l'exposition aux HAPs et aux pesticides. En se basant sur le niveau d'exposition d'une large population, on pourra ensuite définir un seuil à partir duquel une exposition peut être considérée comme dépassant la normale.

#### **IV.2.2. Perspectives à moyen terme**

L'objectif de définir des seuils limites pour les concentrations introduit la perspective principale de cette étude de biomonitoring de l'exposition humaine aux HAPs et aux pesticides : être en mesure de lier une concentration mesurée dans les cheveux à une dose absorbée par une personne et déterminer s'il s'existe un risque pour la santé. S'il devient possible de mettre en évidence avec précision l'exposition chronique d'une personne, ceci ne signifiera pas encore qu'il existe ou non un effet sur la santé de la personne concernée. Il faudra donc essayer d'établir non seulement des seuils indiquant des expositions chroniques élevées, mais aussi des seuils à partir desquels une exposition présente un risque pour la santé humaine. De tels seuils pourraient éventuellement être définis en analysant les cheveux de personnes malades, souffrant p.ex. d'une allergie ou d'un cancer, pour étudier si les concentrations en HAPs et/ou en pesticides dans leurs cheveux sont plus élevées que celles de la population générale. Si de tels seuils existaient, il serait possible d'utiliser le biomonitoring comme une sorte de système d'alerte rapprochée pour prévenir certaines affections : les cheveux informeraient sur une exposition chronique augmentée et les capteurs passifs permettraient de localiser géographiquement les sources de cette exposition et de prendre des mesures correctives adéquates.

## **Chapitre V : Références**

Allam M.F. **2002**. Are incinerator workers exposed to PCDDs and PCDFs? *Occup. Environ. Med.* 59 (9), 649

Alt A., Janda I., Seidl S., Wurst F.M. **2000**. Determination of ethyl glucuronide in hair samples. *Alcohol Alcohol.* 35 (3), 313-314

Altshul L., Covaci A., Hauser R. **2004**. The relationship between levels of PCBs and pesticides in human hair and blood: preliminary results. *Environ. Health Perspect.* 112 (11), 1193-1199

Amin S., Desai D., Hecht S.S. **1993**. Tumor-initiating activity on mouse skin of bay region diol-epoxides of 5,6-dimethylchrysene and benzo[c]phenanthrene. *Carcinogenesis* 14, 2033-2037

Angerer J., Ritter A. **1997**. Determination of metabolites of pyrethroids in human urine using solid-phase extraction and gas chromatography-mass-spectrometry. *J. Chromatogr.* 695, 217-226

Angerer J., Bolt H.M., Brüning T., Drexler H., Eikmann T., Ewers U., Gieler U., Greim H., Hallier E., Letzel S., Mersch-Sundermann V.H., Neuberger M., Nowak P., Rüdiger H.W. **2004**. Über das Biological Monitoring, den Unwillen Gesundheitsrisiken rational abzuschätzen und die Lust an radikalen Maßnahmen. *Umweltmed. Forsch. Prax.* 9 (2), 61-64

Angerer J., Ewers U., Wilhelm M. **2007**. Human biomonitoring: State of the art. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 201-228

Appenzeller B.M.R., Schneider S., Maul A., Wennig R. **2005**. Relationship between blood alcohol concentration and carbohydrate-deficient transferrin among drivers. *Drug Alcohol Depend.* 79 (2), 261-265

Appenzeller B.M.R., Agirman R., Neuberger P., Yegles M., Wennig R. **2007**. Segmental determination of ethyl glucuronide in hair: A pilot study. *Forensic Sci. Int.* 137, 87-92

Asman W., Jørgensen A., Bossi R., Vejrup K.V., Bügel Morgensen B., Glasius M. **2005**. Wet deposition of pesticides and nitrophenols at two sites in Denmark: measurements and contributions from regional sources. *Chemosphere* 59, 1023-1031

Atkinson R., Guicherit R., Hites R.A., Palm W.U., Seiber J.N., de Voogt P. **1999**. Transformation of pesticides in the atmosphere : a state of the art. *Water Air Soil Pollut.* 115, 219-243

Aulagnier F., Poissant L. **2005**. Some pesticides occurrence in air and precipitation in Québec, Canada. *Environ. Sci. Technol.* 39 (9), 2960-2967

Azmi Ah., Naqvi S.N.H., Azmi Ar., Aslam M. **2006**. Effect of pesticide residues on health and different enzyme levels in the blood of farm workers from Gadap (rural area) Karachi – Pakistan. *Chemosphere* 64 (10), 1739-1744

Badawy M.I., Emababy M.A. **2010**. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water in Egypt. *Desalination* 251 (1-3), 34-40

Bartkow M.E., Hawker D.W., Kennedy K.E., Müller J.F. **2004**. Characterizing uptake kinetics of PAHs from the air using polyethylene-based passive air samplers of multiple surface area-to-volume ratios. *Environ. Sci. Technol.* 38 (9), 2701-2706

Baumann K., Angerer J., Heinrich R., Lehnert G. **1980**. Occupational exposure to hexachlorocyclohexane. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 47, 119-127

Binková B., Srám R.J. **2004**. The genotoxic effect of carcinogenic PAHs, their artificial and environmental mixtures (EOM) on human diploid lung fibroblasts. *Mut. Res.* 547 (1-2), 109-121

Bohlin P., Jones K.C., Strandberg B. **2010**. Field evaluation of polyurethane foam passive air samplers to assess airborne PAHs in occupational environments. *Environ. Sci. Technol.* 44 (2), 749-754

Borella P., Rovesti S., Caselgrandi E., Bargellini A. **1996**. Quality control in hair analysis: A systematic study on washing procedures for trace element determinations. *Microchim. Acta* 123 (1-4), 271-280

Bosetti C., La Vecchia C., Lipworth L., Mc Laughlin J.K. **2003**. Occupational exposure to vinyl chloride and cancer risk: a review of the epidemiologic literature. *Eur. J. Cancer Prev.* 12 (5), 427-430

Brüske-Hohlfeld I., Möhner M., Ahrens W., Pohlabeln H., Heinrich J., Kreuzer M., Jöckel K.H., Wichmann H.E. **1999**. Lung cancer risk in male workers occupationally exposed to diesel motor emissions in Germany. *Am. J. Ind. Med.* 36 (4), 405-414

Cairns T., Hill V., Schaffer M., Thistle W. **2004**. Levels of cocaine and its metabolites in washed hair of demonstrated cocaine users and workplace subjects. *Forensic Sci. Int.* 145 (2-3), 175-181

Callén M.S., de la Cruz M.T., López J.M., Murillo R., Navarro M.V., Mastral A.M. **2008**. Some interferences on the mechanism of atmospheric gas/particle partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) at Zaragoza (Spain). *Chemosphere* 73, 1357-1365

Castello G., Gerbina T.C. **1993**. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons with an ion-trap mass detector and comparison with other gas chromatographic and high-performance liquid chromatographic techniques. *Anal. Chim. Acta* 353, 133-142

Chan J.K.K., Xing G.H., Xu Y., Liang Y., Chen L.X., Wu S.C., Wong C.K.C., Leung C.K.M., Wong M.H. **2007**. Body loadings and health risk assessment of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans at an intensive electronic waste recycling site in China. *Environ. Sci. Technol.* 41, 7668-7674

Charlier C.J., Foidart J.M. **2005**. Comparative study of dichlorodiphenyldichloroethylene in blood and semen of two young male populations: Lack of relationship to infertility, but evidence of high exposure of the mothers. *Reprod. Toxicol.* 20 (2), 215-220

Chen H.Y., Preston M.R. **1997**. Gas/Particle partitioning behaviour of azaarenes in an urban atmosphere. *Environ. Pollut.* 97 (1-2), 169-174

Cheng W.H., Chu F.S., Su T.I. **2005**. Effects of liquid VOC concentration and salt content on partitioning equilibrium of hydrophilic VOC at air-sweat interface. *Atmos. Environ.* 39 (30), 5509-5516

Chérif S., Wortham H. **1997**. Comparison of atmospheric pesticide concentrations measured at three sampling sites: local, regional and long-range transport. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 68, 199-212

Chetiyankornkul T., Toriba A., Kameda T., Tang N., Hayakawa K. **2006**. Simultaneous determination of urinary hydroxylated metabolites of naphthalene, fluorine, phenanthrene, fluoranthene and pyrene as multiple biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 712-718

Cirimele V., Kintz P., Ludes B. **1999**. Evidence of pesticides exposure by hair analysis. *Acta Clin. Belg. Suppl.* 1, 59-63

Cone E.J., Darwin W.D., Wang W.L. **1993**. The occurrence of cocaine, heroin and metabolites in hair of drug abusers. *Forensic Sci. Int.* 63 (1-3), 55-68

Conter G. **2005**. Preisstatistik 2004. *De Beroder* 35, 1-4

Cortes D.R., Basu I., Sweet C.W., Brice K.A., Hoff R.M., Hites R.A. **1998**. Temporal trends in gas-phase concentrations of chlorinated pesticides measured at the shores of the Great Lakes. *Environ. Sci. Technol.* 32 (13), 1920-1927

Covaci A., Schepens P. **2001**. Chromatographic aspects of the analysis of selected persistent organochlorine pollutants in human hair. *Chromatographia* 53, 366-371

Covaci A., de Boer J., Ryan J.J. **2002**. Distribution of organobrominated and organochlorinated contaminants in Belgian human adipose tissue. *Environ. Res.* 88, 210-218

Covaci A., Hura C., Gheorghe A., Neels H., Dirtu A.C. **2008**. Organochlorine contaminants in hair of adolescents from Iassy, Romania. *Chemosphere* 72, 16-20

Culea M., Cozar O., Culea E. **2005**. PAHs in cigarette smoke by gas chromatography-mass spectrometry. *Indoor Built. Environ.* 14 (3-4), 283-292

- Curren M.M.S., King J.W. **2001**. Ethanol-modified subcritical water extraction combined with solid-phase microextraction for determining Atrazine in beef kidney. *J. Agric. Food Chem.* 49, 2175-2180
- Daly H., Doyen J.T., Purcell A.H. **1998**. Introduction to insect biology and diversity, 2<sup>nd</sup> edition, Oxford University Press, New York 14, 279-300
- Dauberschmidt C., Wennig R. **1998**. Organochlorine pollutants in human hair. *J. Anal. Toxicol.* 22, 610-611
- Denier van der Gon H., van het Bolscher M., Visschedijk A., Zandveld P. **2007**. Emissions of persistent organic pollutants and eight candidate POPs from UNECE-Europe in 2000, 2010 and 2020 and the emission reduction resulting from the implementation of the UNECE POP protocol. *Atmos. Environ.* 41, 9245-9261
- De Souza Pereira M., Heitmann D., Reifenhäuser W., Ornellas Meire R., Silva Santos L., Torres J.P.M., Malm O., Körner W. **2007**. Persistent organic pollutants in atmospheric deposition and biomonitoring with *Tillandsia usneoides* (L.) in an industrialized area in Rio de Janeiro state, southeast Brazil – Part II: PCB and PAH. *Chemosphere* 67, 1736-1745
- De Wit C.A. **2002**. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46, 583-624
- Deer H. **2004**. Pesticide adsorption and half-life. *Pesticides* 15, 1-2
- Denovan L.A., Lu C., Hines C.J., Fenske R.A. **2000**. Saliva biomonitoring of strazine exposure among herbicide applicators. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 73, 457-462
- D'Have H., Schreirs J., Covaci A., van den Brink N.W., Verhagen R., De Coen W. **2007**. Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): IV. Hair versus soil analysis in exposure and risk assessment of organochlorine compounds. *Environ. Pollut.* 145, 861-868
- Dobson R., Scheyer A., Rizet A.L., Mirabel P., Millet M. **2006**. Comparison of the efficiencies of different types of adsorbents at trapping currently used pesticides in the gaseous phase using the technique of high-volume sampling. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 1781-1789
- Dridi S., Driss M.R., Sabbah S., Bougerra M.L. **1998**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne diesel exhaust particulates by HPLC with UV detection and wavelength programming. *J. Liq. Chromatogr. & Rel. Technol.* 21, 475-489
- Dulaurent S., Gaulier J.M., Baudel J.L., Fardet L., Maury E., Lachâtre G. **2008**. Hair analysis to document non-fatal pesticide intoxication cases. *Forensic Sci. Int.* 176, 72-75

- Eadsford C.V., Bragt P.C., van Sittert N.J. **1988**. Human-dose excretion studies with pyrethroid insecticides cypermethrin and alphacypermethrin: relevance for biological monitoring. *Xenobiotica* 18, 603-614
- Eisert R., Gorecki T., Pawliszyn J. **1997**. Pesticide analysis by solid-phase micro-extraction. *Am. Environ. Lab.* 9, 20-22
- Elliott J., Walker K., Penick A., Durham N. **1960**. A sensitive procedure for urinary paranitrophenol determination as a measure of exposure to Parathion. *J. Agr. Food Chem.* 8, 111-118
- Elovaara E., Väänänen V., Mikkola J. **2003**. Simultaneous analysis of naphthols, phenanthrols, and 1-hydroxypyrene in urine as biomarkers of polycyclic aromatic hydrocarbon exposure: intraindividual variance in the urinary metabolite excretion profiles caused by intervention with  $\beta$ -naphthoflavone induction in the rat. *Arch. Toxicol.* 77, 183-193
- Elovaara E., Mikkola J., Mäkelä M., Paldanius B., Priha E. **2006**. Assessment of soil remediation worker's exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH): Biomonitoring of naphthols, phenanthrols, and 1-hydroxypyrene in urine. *Toxicol. Lett.* 162, 158-163
- Esen F., Tasdemir Y., Vardar N. **2008**. Atmospheric concentrations of PAHs, their possible sources and gas-to-particle partitioning at a residential site of Bursa, Turkey. *Atmos. Environ.* 88, 243-255
- Esteban M., Castaño A. **2009**. Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review. *Environ. Int.* 35, 438-449
- Fagundes R.B., Abnet C.C., Strickland P.T., Kamangar F., Roth M.J., Taylor P.R., Dawsey S.M. **2006**. Higher urine 1-hydroxypyrene glucuronide (1-OHPG) is associated with tobacco smoke exposure and drinking maté in healthy subjects from Rio Grande do Sul, Brazil. *BMC Cancer* 6, 139-145
- Fan Z.H., Jung K.H., Liou P.J. **2006**. Development of a passive sampler to measure personal exposure to gaseous PAHs in community settings. *Environ. Sci. Technol.* 40 (19), 6051-6057
- Farhadian A., Jinap S., Abas F., Sakar Z.I. **2010**. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat. *Food Control* 21 (5), 606-610
- Fenske R.A., Kissel J.C., Lu C., Kalman D.A., Simcox N.J., Allen E.H., Keifer M.C. **2000**. Biologically based pesticide dose estimates for children in an agricultural community. *Environ. Health Perspect.* 108 (6), 515-520
- Ferrari M., Negri S., Zadra P., Ghittori S., Imbriani M. **2008**. Saliva as an analytical tool to measure occupational exposure to toluene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 1021-1028

Ferreira Martins L., Yegles M., Samyn N., Ramaekers J.G., Wennig R. **2007**. Time-resolved hair analysis of MDMA enantiomers by GC/MS-NCI. *Forensic Sci. Int.* 172, 150-155

Fisher B.E. **1999**. Most unwanted: persistent organic pollutants. *Environ. Health Perspect.* 107 (1), A18-A23

Fogerson R., Schoendorfer D., Fay J., Spiehler V. **1997**. Qualitative detection of opiates in sweat by EIA and GC-MS. *J. Anal. Toxicol.* 21 (6), 451-458

Fontcuberta M., Arqués J.F., Villalbi J.R., Martínez M., Centrich F., Serrahima E., Pineda L., Duran J., Casas C. **2008**. Chlorinated organic pesticides in marketed food: Barcelona, 2001-06. *Sci. Tot. Environ.* 389 (1), 52-57

Foreman W.T., Bidleman T.F. **1987**. An experimental system for investigating vapor-particle partitioning of trace organic pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 21, 869-875

Fournier E., Sonnier M., Dally S. **1978**. Detection and Assay of organophosphate pesticides in human blood by gas chromatography. *Clinical Toxicol.* 12 (4), 457-462

Freire C., Abril A., Fernández M.F., Ramos R., Estarlich M., Manrique A., Aguirre A., Ibarluzea J., Olea N. **2009**. Urinary 1-hydroxypyrene and PAH exposure in 4-year-old Spanish children. *Sci. Tot. Environ.* 407, 1562-1569

Friedman H.B. **1992**. DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane). A chemist's tale. *J. Chem. Educ.* 69 (5), 362-371

Fucci N., de Giovanni N., Chiarotti M. **2003**. Simultaneous detection of some drugs of abuse in saliva samples by SPME technique. *Forensic Sci. Int.* 134 (1), 40-45

Garshick E., Laden F., Hart J.E., Rosner B., Smith T.J., Dockery D.W., Speizer F.E. **2004**. Lung cancer in railroad workers exposed to diesel exhaust. *Environ. Health Perspect.* 112 (15), 1539-1543

Gill U., Covaci A., Ryan J.J., Emond A. **2004**. Determination of persistent organohalogenated pollutants in human hair reference material (BCR 397): an interlaboratory study. *Anal. Bioanal. Chem.* 380, 924-929

Gioia R., Steinnes E., Thomas G.O., Meijer S.N., Jones K.C. **2006**. Persistent organic pollutants in European background air: derivation of temporal and latitudinal trends. *J. Environ. Monit.* 8, 700-710

Glotfelty D.E., Taylor A.W., Turner B.C., Zoller W.H. **1984**. Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. *J. Agric. Food Chem.* 32, 638-644



Gmeiner G., Krassnig C., Schmid E., Tausch H. **1998**. Fast screening method for the profile analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in urine using derivatisation-solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. B* 705 (1), 132-138

Gmeiner G., Gärtner P., Krassnig C., Tausch H. **2002**. Identification of various urinary metabolites of fluorine using derivatization solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. B* 766, 209-218

Górecki T., Namiesnik J. **2002**. Passive sampling. *Trends in Anal. Chem.* 21, 276-291

Gouin T., Harner T., Blanchard P., Mackay D. **2005**. Passive and active air samplers as complementary methods for investigating persistent organic pollutants in the Great Lakes Basin. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9115-9122

Gouin T., Shoeib M., Harner T. **2008**. Atmospheric concentrations of current-use pesticides across south-central Ontario using monthly-resolved passive air samplers. *Atmos. Environ.* 42, 8096-8104

Gregor D.J., Gummer W.D. **1989**. Evidence of atmospheric transport and deposition of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Canadian arctic snow. *Environ. Sci. Technol.* 23, 561-565

Grimmer G., Naujack K.W., Dettbarn G. **1987**. Gaschromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, azaarenes, aromatic amines in the particle and vapor phase of mainstream and sidestream smoke of cigarettes. *Toxicol. Lett.* 35, 117-124

Grimmer G., Jacob J., Dettbarn G., Naujack K.W. **1997**. Determination of urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) for the risk assessment of PAH-exposed workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 69, 231-239

Gröschl M., Köhler H., Topf H.G., Rupprecht T., Rauh M. **2008**. Evaluation of saliva collection devices for the analysis of steroids, peptides and therapeutic drugs. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 47 (3), 478-486

Guillén M.D., Sopelana P. **2005**. Headspace solid-phase microextraction as a tool to estimate the contamination of smoked cheeses by polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Dairy Soc.* 88, 13-20

Guo H., Lee S.C., Ho K.F., Wang X.M., Zou S.C. **2003**. Particle-associated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban air of Hong Kong. *Atmos. Environ.* 37, 5307-5317

Hardell L., van Bavel B., Lindström G., Carlberg M., Dreifaldt A.C., Wijkström H., Starkhammar H., Eriksson M., Hallquist A., Kolmert T. **2003**. Increased concentrations of polychlorinated biphenyls, hexachlorobenzene, and chlordanes in mothers of men with testicular cancer. *Environ. Health Perspect.* 111 (7), 930-934

Harner T., Shoeib M., Diamond M., Stern G., Rosenberg B. **2004**. Using passive air samplers to assess urban-rural trends for persistent organic pollutants. 1. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4474-4483.

Harner T., Bartkow M., Holoubek I., Klanova J., Wania F., Gioia R., Moeckel, C., Sweetman A.J., Jones K.C. **2006a**. Passive air sampling for persistent organic pollutants: Introductory remarks to the special issue. *Environ. Pollut.* 144, 361-364

Harner T., Shoeib M., Gouin T., Blanchard P. **2006b**. Polychlorinated naphthalenes in Great Lakes air: assessing spatial trends and combustion inputs using PUF disk passive air samplers. *Environ. Sci. Technol.* 40, 5333-5339.

Hayward S.J., Gouin T., Wania F. **2010**. Comparison of four active and passive sampling techniques for pesticides in air. *Environ. Sci. Technol.* 44, 3410-3416

He F., Sun J., Han K., Wu Y., Yao P., Wang S., Liu L. **1988**. Effects of pyrethroid insecticides on subjects engaged in packing pyrethroids. *Br. J. Ind. Med.* 45, 548-551

Hecht S.S., El-Bayoumy K., Rivenson A., Amin S. **1999**. Potent mammary carcinogenicity in female CD rats of a fjord regional diol-epoxide of benzo[c]phenanthrene compared to a bay region diol-epoxide of benzo[a]pyrene. *Cancer Res.* 54, 21-24

Hecht S.S. **2002**. Human urinary carcinogen metabolites: biomarkers for investigating tobacco and cancer. *Carcinogenesis* 6, 907-922

Hernandez F., Beltran J., Lopez F.J., Gaspar J.V. **2000**. Use of solid-phase microextraction for the quantitative determination of herbicides in soil and water samples. *Anal. Chem.* 72, 2313-2322

Heudorf U., Angerer J. **2001a**. Metabolites of pyrethroid insecticides in urine specimens: current exposure in an urban population in Germany. *Environ. Health Perspect.* 109 (3), 213-217

Heudorf U., Angerer J. **2001b**. Urinary monohydroxylated phenanthrenes and hydroxypyrene – the effects of smoking habits and changes induced by smoking on monooxygenase-mediated metabolism. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 74, 177-183

Heudorf U., Butte W., Schulz C., Angerer J. **2006**. Reference values for metabolites of pyrethroid and organophosphorous insecticides in urine for human biomonitoring in environmental medicine. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 209, 293-299

Hill V., Cairns T., Schaffer M. **2008**. Hair analysis for cocaine: Factors in laboratory contamination studies and their relevance to proficiency sample preparation and hair testing practices. *Forensic Sci. Int.* 176 (1), 23-33

- Hoek G., Brunekreef B., Goldbohm S., Fischer P., van den Brandt P.A. **2002**. Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study. *The Lancet* 360 (9341), 1203-1209
- Hoff R.M., Muir D.C.G., Grift N.P. **1992**. Annual cycle of polychlorinated biphenyls and organohalogen pesticides in air in Southern Ontario. 1. Air concentration data. *Environ. Sci. Technol.* 26, 266-275
- Höner A., Arnold M., Hüsters N., Kleiböhmer W. **1995**. Monitoring polycyclic aromatic hydrocarbons in waste gases. *J. Chromatogr. A* 710, 129-137
- Hong Y.C., Leem J.H., Park H.S., Lee K.H., Lee S.J., Lee C.K., Kang D. **1999**. Variations of urinary 1-hydroxypyrene glucuronide in relation to smoking and the modification effects of GSTM1 and GSTT1. *Toxicol. Lett.* 108 (2-3), 217-223
- Hu R., Hennion B., Urruty L., Montury M. **1999**. Solid phase micro-extraction of pesticide residues from strawberries. *Food Add. Contam.* 16, 111-117
- Hu S.W., Chan Chien G.P., Chan C.C. **2004**. PCDD/Fs levels in indoor environments and blood of workers of three municipal waste incinerators in Taiwan. *Chemosphere* 55 (4), 611-620
- Huang W., Grainger J., Patterson D.G., Turner W.E., Caudill S.P., Needham L.L., Pirkle J.L., Sampson E.J. **2004**. Comparison of 1-hydroxypyrene exposure in the US population with that in occupational exposure studies. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 77, 491-498
- Hughes T.J., Pellizzari E., Little L., Sparacino C., Kolber A. **1980**. Ambient air pollutants: Collection, chemical characterization and mutagenicity testing. *Mut. Res.* 76 (1), 51-83
- IARC (International Agency for Research on Cancer). **1972**. Certain polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic compounds. Publié dans: IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, volume 3
- Imaida K., Lee M.S., Land S.J., Wang C.Y., King C.M. **1991**. Carcinogenicity of dinitropyrenes in the weanling female CD rat. *Carcinogenesis* 12, 1187-1191
- INERIS (Institut National de l'Environnement industriel et des Risques). **2005**. Document INERIS-DRC-01-25590-00DF250, version N° 3-3, novembre 2005
- Iñigo-Nuñez S., Herreros M.A., Encinas T., Gonzalez-Bulnes A. **2010**. Estimated daily intake of pesticides and xenoestrogenic exposure by fruit consumption in the female population from a Mediterranean country (Spain). *Food Control* 21 (4), 471-477
- Jacob J., Grimmer G., Schmoldt A. **1982**. The influence of polycyclic aromatic hydrocarbons as inducers of monooxygenases on the metabolic profile of benzo(a)anthracene in rat liver microsomes. *Cancer Lett.* 14, 175-185

Jacob J., Seidel A. **2002**. Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine. *J. Chromatogr. B* 778, 31-47

Jaward F., Farrar N.J., Harner T., Sweetman A.J., Jones K.C. **2004a**. Passive air sampling of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated naphthalenes across Europe. *Environ. Toxicol. Chem.* 23 (6), 1355-1364

Jaward F., Farrar N.J., Harner T., Sweetman A.J., Jones K.C. **2004b**. Passive air sampling of PCBs, PBDEs, and organochlorine pesticides across Europe. *Environ. Sci. Technol.* 38 (1), 34-41

Jermann E., Hajimiragha H., Brockhaus A., Freier I., Ewers U., Roscuvanu A. **1989**. Belastung von Kindern durch Benzol und andere verkehrsbedingte Immissionen. *Zbl. Hyg. Umweltmed.* 189, 50-61

Jinno K., Muramatsu T., Saito Y., Magdic S., Pawliszyn J. **1996**. Analysis of pesticides in environmental water samples by solid-phase micro-extraction-high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 754 (1-2), 137-144

Jones A.W., Kugelberg F.C. **2010**. Relationship between blood and urine alcohol concentrations in apprehended drivers who claimed consumption of alcohol after driving with and without supporting evidence. *Forensic Sci. Int.* 194 (1-3), 97-102

Jongeneelen F.J., Anzion R.B.M., Leijdekkers C.M., Bos R.P., Henderson P.T. **1985**. 1-Hydroxypyrene in human urine after exposure to coal tar and a coal tar derived product. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 57, 47-55

Jongeneelen F.J., Anzion R.B.M., Henderson P.T. **1987**. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J. Chromatogr.* 413, 227-232

Jongeneelen F.J., van Leeuwen F.E., Oosterink S., Anzion R.B.M., van der Loop F., Bos R.P., van Veen H.G. **1990**. Ambient and biological monitoring of cokeoven workers: determinants of the internal dose of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Br. J. Ind. Med.* 47 (7), 454-461

Jongeneelen F.J. **1994**. Biological monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: 1-hydroxypyrene in urine of people. *Toxicol. Lett.* 72 (1-3), 205-211

Jongeneelen F.J. **1997**. Methods for routine biological monitoring of carcinogenic PAH-mixtures. *Sci. Tot. Environ.* 199, 141-149

Kadehijan L.J. **2005**. Specimens for drugs-of-abuse testing. De: Forensic science and medicine: Drugs of abuse: Body fluid testing. Edité par R.C. Wong et H.Y. Tse. Humana Press, 1<sup>ère</sup> édition du 16 juin 2005

- Kalaitzoglou M, Samara C. **2006**. Gas/particle partitioning and yield levels of polycyclic aromatic hydrocarbons and n-alkanes in the mainstream cigarette smoke of commercial cigarette brands. *Food Chem. Toxicol.* 44 (8), 1432-1442
- Kintz P., Tracqui A., Mangin P., Edel Y. **1996**. Sweat testing in opioid users with a sweat patch. *J. Anal. Toxicol.* 20, 393-397
- Kintz P. **2007**. Analytical and practical aspects of drug testing in hair. CRC Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL, USA
- Klánová J., Èupr P., Kohoutek J., Harner T. **2008**. Assessing the influence of meteorological parameters on the performance of polyurethane foam-based passive samplers. *Environ. Sci. Technol.* 42 (2), 550-555
- Koide I., Noguchi O., Okada K., Yokoyama A., Oda H., Yamamoto S., Kataoka H. **1998**. Determination of amphetamine and methamphetamine in human hair by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. *J. Chromatogr. B* 707 (1-2), 99-104
- Kronstrand R., Grundin R., Jonsson J. **1998**. Incidence of opiates, amphetamines, and cocaine in hair and blood in fatal cases of heroin overdose. *Forensic Sci. Int.* 92 (1), 29-38
- Kronstrand R., Scott K. **2007**. Drug incorporation into hair. Dans: Analytical and practical aspects of drug testing in hair. P. Kintz (Ed.), Taylor and Francis, Boca Raton 1-23
- Kumar Prajapati S., Tripathi B.D. **2008**. Biomonitoring seasonal variation of urban air polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using *Ficus benghalensis* leaves. *Environ. Pollut.* 151, 543-548
- Kuusimäki L., Peltonen Y., Mutanen P., Peltonen K., Savela K. **2004**. Urinary hydroxyl-metabolites of naphthalene, phenanthrene and pyrene as markers of exposure to diesel exhaust. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 77, 23-30
- Lamotte M., Belfutmi R., Fournier de Violet P., Garrigues P., Lafontaine M., Dumas C. **2003**. Detection of 1-hydroxypyrene in urine by direct fluorometric analysis on a solid sorbing phase. Validation and application of the method to biological monitoring of PAH-exposed persons. *Anal. Bioanal. Chem.* 376, 816-821
- Lang C., Tao S., Wang X., Zhang G., Li J., Fu J. **2007**. Seasonal variations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Pearl River Delta region, China. *Atmos. Environ.* 41 (37), 8370-8379
- Lee S., Mc Laughlin R., Harnly M., Gunier R., Kreutzer R. **2002**. Community exposures to airborne agricultural pesticides in California: ranking of inhalation risks. *Environ. Health Perspect.* 110 (12), 1175-1184

Lee S., Cordero R., Paterson S. **2009**. Distribution of 6-monoacetylmorphine and morphine in head and pubic hair from heroin-related deaths. *Forensic Sci. Int.* 183 (1-3), 74-77

Leute R., Ullman E.F., Goldstein A. **1972**. Spin immunoassay of opiate narcotics in urine and saliva. *J. A. M. A.* 221 (11), 1231-1234

Levario-Carillo M., Amato D., Ostrosky-Wefman P., Gonzales-Horta C., Corona Y., Sanin L.H: **2004**. Relation between pesticide exposure and intrauterine growth retardation. *Chemosphere* 55, 1421-1427

Levin W., Wood A.W., Chang R.L., Ittah Y., Croisy-Delcey M., Yagi H., Conney A.H., Jerina D.M. **1980**. Exceptionally high tumor-initiating activity of benzo[c]phenanthrene bay-region diol-epoxides on mouse skin. *Cancer Res.* 40, 3910-3914

Lewis R.G., Jackson M.D. **1982**. Modification and evaluation of a high-volume air sampler for pesticides and semivolatile industrial organic chemicals. *Anal. Chem.* 54 (3), 592-594

Li H., Krieger R.I., Li Q.X. **2000**. Improved HPLC method for analysis of 1-hydroxypyrene in human urine specimens of cigarette smokers. *Sci. Tot. Environ.* 257 (2-3), 147-153

Lim H.K., Hubbard J.W., Midha K.K. **1986**. Development of enantioselective gas chromatographic quantitation assay for dl-threo-methylphenidate in biological fluids. *J. Chromatogr.* 378, 109-123

Liu X., Zhang G., Li J., Yu L.L., Zu Y., Li X.D., Kobara Y., Lones K.C. **2009**. Seasonal patterns and current sources of DDTs, chlordanes, hexachlorobenzene, and endosulfan in the atmosphere of 37 chinese cities. *Environ. Sci. Technol.* 43 (5), 1316-1321

Lodovici M., Akpan V., Evangelisti C., Dolara P. **2004**. Sidestream tobacco smoke as main predictor of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Appl. Toxicol.* 24, 277-281

Lopez-Avilar V., Young R., Beckert W.F. **1997**. Online determination of organophosphorous pesticides in water by solid-phase microextraction and gas chromatography with thermionic-selective detection. *J. High Resolut. Chromatogr. A* 20, 487-492

Luan T., Fang S., Zhong Y., Lin L., Chan S.M.N., Lan C., Tam N.F.Y. **2007**. Determination of hydroxyl metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons by fully automated solid-phase microextraction derivatization and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1173 (1-2), 37-43

Lucas A.C.S., Bermejo A.M., Tabernero M.J., Fernández P., Strano-Rossi S. **2000**. Use of solid-phase microextraction (SPME) for the determination of methadone and EDDP in human hair by GC-MS. *Forensic Sci. Int.* 107, 225-232

Magdic S., Pawliszyn J. J. **1996**. Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A* 723, 111-122

- Majewski M.S., Desjardins R., Rochette P., Pattey E., Seiber J., Glotfelty D. **1993**. Field comparison of an eddy accumulation and an aerodynamic-gradient system for measuring pesticide volatilization fluxes. *Environ. Sci. Technol.* 27, 121-128
- Mandalakis M., Tsapakis M., Tsoga A., Stephanou E.G. **2002**. Gas-particle concentrations and distribution of aliphatic hydrocarbons, PAHs, PCBs and PCDD/Fs in the atmosphere of Athens (Greece). *Atmos. Environ.* 36, 4023-4035
- Martin G.W., Wilkinson D.A., Kapur B.M. **1988**. Validation of self-reported cannabis use by urine analysis. *Addict. Behav.* 13 (2), 147-150
- Martins L., Yegles M., Chung H., Wennig R. **2005**. Simultaneous enantioselective determination of amphetamine and congeners in hair specimens by negative chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 825, 57-62
- Martins Ferreira L. **2007**. Etude des paramètres physico-chimiques impliqués dans les séparations énantiosélectives de xénobiotiques chiraux. Application en toxicologie clinique et médico-légale. Thèse de doctorat présentée à l'Université de Nancy le 17 septembre 2007. 198 pages
- Mastral A.M., López J.M., Callén M.S., García T., Murillo R., Navarro M.V. **2003**. Spatial and temporal PAH concentrations in Zaragoza, Spain. *Sci. Tot. Environ.* 307, 111-124
- Meissner C., Recker S., Reiter A., Friedrich H.J., Oehmichen M. **2002**. Fatal versus non-fatal heroin "overdose": blood morphine concentrations with fatal outcome in comparison to those of intoxicated drivers. *Forensic Sci. Int.* 130 (1), 49-54
- Menichini E., Iacovella N., Monfredini F., Turrio-Baldassarri L. **2007**. Atmospheric pollution by PAHs, PCDD/Fs and PCBs simultaneously collected at a regional background site in central Italy and at an urban site in Rome. *Chemosphere* 69 (3), 422-434
- Meyer A., Chrisman J., Moreira J.C., Koifman S. **2003**. Cancer mortality among agricultural workers from Serrano Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Environ. Res.* 93, 264-271
- Miller G.T. 2002. *Living in the environment*, 12<sup>th</sup> Edition Wadsworth/Thomson, Belmont
- Mohammadi A., Yamini Y., Alizadeh N. **2005**. Dodecylsulfate-doped polypyrrole film prepared by electrochemical fiber coating technique for headspace solid-phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Chromatogr. A* 1063, 1-8
- Moody D.E., Cheever M.L. **2001**. Evaluation of immunoassays for semiquantitative detection of cocaine and metabolites or heroin and metabolites in extracts of sweat patches. *J. Anal. Toxicol.* 25 (3), 190-197

Morville S., Scheyer A., Mirabelle P., Millet M. **2004**. Sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban and rural atmospheres: spatial and geographical variations of concentrations. *Polycyc. Arom. Hydrocarb.* 24, 617-634

Morville S. **2005**. Analyse d'HAPs, phénols et nitrophenols dans l'atmosphère. Evaluation de la contamination des deux phases atmosphériques (gaz et particule). Comparaison entre zones urbaine, péri-urbaine et rurale. Thèse de doctorat présentée à l'Université Louis Pasteur à Strasbourg le 24 novembre 2005. 219 pages

Morville S., Scheyer A., Mirabel P., Millet M. **2006**. Spatial and geographical variations of urban, suburban and rural atmospheric concentrations of phenols and nitrophenols. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 13, 83-89

Motelay-Massei A., Harner T., Shoeib M., Diamond M., Stern G., Rosenberg B. **2005**. Using passive air samplers to assess urban-rural trends for persistent organic pollutants and polycyclic aromatic hydrocarbons. 2. Seasonal trends for PAHs, PCBs and organochlorine pesticides. *Environ. Sci. Technol.* 39 (15), 5763-5773

Murphy G. **2005**. Resistance management – Pesticide rotation. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.

Musshoff F., Madea B. **2007**. New trends in hair analysis and scientific demands on validation and technical notes. *Forensic Sci. Int.* 165, 204-215

Nadal M., Perelló G., Schuhmacher M., Cid J., Domingo J.L. **2008**. Concentrations of PCDD/PCDFs in plasma of subjects living in the vicinity of a hazardous waste incinerator: Follow-up and modeling validation. *Chemosphere* 73 (6), 901-906

Nakahara Y. **1999**. Hair analysis for abused and therapeutic drugs. *J. Chromatogr. B* 733, 161-180

Nakao T., Aozasa O., Ohta S., Miyata H. **2002**. Assessment of human exposure to PCDDs, PCDFs and Co-PCBs using hair as a human pollution indicator sample. I: development of analytical method for human hair and evaluation for exposure assessment. *Chemosphere* 48, 885-896

Nakao T., Aozasa O., Ohta S., Miyata H. **2005**. Survey of human exposure to PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs using hair as an indicator. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 49, 124-130

Nations Unies. **2009**. Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants. Adoption d'amendements aux annexes A, B et C. Notification dépositaire C.N.524.2009.TREATIES-4 (<http://treaties.un.org>)

Negrão M.R., Alpendurada M.F. **1998**. Solvent-free method for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in waste water by solid-phase microextraction-high-



performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *J. Chromatogr. A* 823, 211-218

Neuber K., Merkel G., Randow F.F.E. **1999**. Indoor air pollution by lindane and DDT indicated by head hair samples of children. *Toxicol. Lett.* 107, 189-192

Niedbala R.S., Kardos K.W., Fritch D.F., Kardos S., Fries T., Waga J. **2001**. Detection of marijuana use by oral fluid and urine analysis following single-dose administration of smoked and oral marijuana, *J. Anal. Toxicol.* 25 (5), 289-303

Nishida M., Namera A., Yashiki M., Kimura K. **2004**. Miniaturized sample preparation method for determination of amphetamines in urine. *Forensic Sci. Int.* 143 (2-3), 163-167

Obenland H. **2005**. Humanbiomonitoring versus Ambient-Monitoring – für eine Debatte mit Maß und Ziel. *Umweltmed. Forsch. Prax.* 10 (3), 201-207

Oglobiline A.N., Elimelakh H., Tattam B., Geyer R., O'Donnell G.E., Holder G. **2001**. Negative ion chemical ionization GC/MS-MS analysis of dialkylphosphate metabolites of organophosphate pesticides in urine of non-occupationally exposed subjects. *Analyst* 126, 1037-1041

Omar N.Y.M.J., Abas M.R.B., Ketuly K.A., Tahir N.M. **2002**. Concentrations of PAHs in atmospheric particles (PM-10) and roadside soil particles collected in Kuala Lumpur, Malaysia. *Atmos. Environ.* 36, 247-254

Ostrea E.M., Villanueva-Uy E., Bielawski D.M., Posecion N.C., Corrion M.L., Jin Y., Janisse J.J., Ager J.W. **2006**. Maternal hair – An appropriate matrix for detecting maternal exposure to pesticides during pregnancy. *Environ. Res.* 101, 312-322

Ostrea E.M., Bielawski D.M., Posecion N.C., Corrion M., Villanueva-Uy E., Jin Y., Janisse J.J., Ager J.W. **2008**. A comparison of infant hair, cord blood and meconium analysis to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environ. Res.* 106, 277-283

Ostrea E.M., Bielawski D.M., Posecion N.C., Corrion M., Villanueva-Uy E., Bernardo R.C., Jin Y., Janisse J.J., Ager J.W. **2009**. Combined analysis of prenatal (maternal hair and blood) and neonatal (infant hair, cord blood and meconium) matrices to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environ. Res.* 109, 116-122

Patterson M.J., Galloway S.D.R., Nimmo M.A. **2000**. Variations in regional sweat compositions in normal human males. *Exp. Physiol.* 85 (6), 869-876

Peck A.M., Hornbuckle K.C. **2005**. Gas-phase concentrations of current-use pesticides in Iowa. *Environ. Sci. Technol.* 39, 2952-2959

Pimentel D., Acquay H., Biltonen M., Rice P., Silva M., Nelson J., Lipner V., Giordano S., Horowitz A., D'Amore M. **1991**. Assessment of environmental and economic impacts of

pesticide use. The pesticide question – environment, economics and ethics. Edition Springer US 47-84

Posecion N., Ostrea E., Dielawski D., Corrion M., Seagraves J., Jin Y. **2006**. Detection of exposure to environmental pesticides during pregnancy by the analysis of maternal hair using GC-MS. *Chromatographia* 64, 681-687

Possanzini M., Di Palo V., Gigliucci P., Tomasi Scianò M.C., Cecinato A. **2004**. Determination of phase-distributed PAH in Rome ambient air by denuder/GC-MS method. *Atmos. Environ.* 38, 1727-1734

Pötsch L., Skopp G. **2004**. Inkorporation von Fremdsbstanzen in Haare. Dans: Haaranalytik. Technik und Interpretation in Medizin und Recht. Musshoff F., Madea B., Deutscher Ärzte-Verlag 31-101

Pozo K., Harner T, Shoeib M., Urrutia R., Barra R., Parra O., Focardi S. **2005**. Passive-sampler derived air concentrations of persistent organic pollutants on a north-south transect in Chile. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4867-4873

Proença P., Marques E.P., Teixeira H., Castanheira F., Barroso M., Ávila S., Vieira D.N. **2003**. A fatal forensic intoxication with fenarimol : analysis by HPLC/DAD/MSD. *Forensic Sci. Int.* 133, 95-100

Proença P., Teixeira H., Castanheira F., Pinheiro J., Monsanto P.V., Marques E.P., Nuno Vieira D. **2005**. Two fatal intoxication cases with imidacloprid : LC/MS analysis. *Forensic Sci. Int.* 153, 75-80

Ramírez Fernández M., Wille S.M.R., di Fazio V., Gosselin M., Samyn N. **2010**. Analysis of amphetamines and metabolites in urine with ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 878 (19), 1616-1622

Ravindra K., Sokhi R., Van Grieken R. **2008**. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos. Environ.* 42, 2895-2921

Rizet A.L., Lottmann A., Mirabel P., Millet M. **2004**. Etude expérimentale des transferts de pesticides vers l'atmosphère. Cas des cultures viticoles. Réunion des Sciences de la Terre – Société géologique de France – Geologische Vereinigung – Strasbourg, France, 20-25/09/04

Roan C.C., Morgan D.P., Cook N., Paschal E.H. **1969**. Blood cholinesterases, serum Parathion concentrations and urine p-nitrophenol concentrations in exposed individuals. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 4 (6), 362-369

Rodriguez I., Llompart M.P., Cela R. **2000**. Solid-phase extraction of phenols. *J. Chromatogr. A* 885, 291-304

- Romanoff L.C., Li Z., Young K.L., Blakely N.C., Patterson D.G., Sandau C.D. **2006**. Automated solid-phase extraction method for measuring urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in human biomonitoring using isotope-dilution gas chromatography high-resolution mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 835, 47-54
- Rugen P.J., Stern C.D., Lamm S.H. **1989**. Comparative carcinogenicity of the PAHs as a basis for acceptable exposure levels (AELs) in drinking water. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 9 (3), 273-283
- Sadiki M., Poissant L. **2008**. Atmospheric concentrations and gas-particle partitions of pesticides: comparison between measured and gas-particle partitioning models from source and receptor sites. *Atmos. Environ.* 42, 8288-8299
- Sanchez-Pena L.C., Reyes B.E., Lopez-Carillo L., Recio R., Moran-Martinez J., Cebrian M.E., Quintanilla-Vega B. **2004**. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agriculture workers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196, 108-113
- Sanusi A., Millet M., Mirabel P., Wortham H. **1999**. Gas-particle partitioning of pesticides in atmospheric samples. *Atmos. Environ.* 33, 4941-4951
- Sanusi A., Millet M., Mirabel P., Wortham H. **2000**. Airborne pesticides concentrations and  $\alpha/\gamma$  HCH ratio in Alsace (East France) air. *Sci. Tot. Environ.* 263 (1-3), 263-277
- Sanusi A., Urruty L., Pommier J.J., Montury M. **2001**. XXXI congrès national du Groupe Français des Pesticides (GFP) à Lyon, 15-17/5/2001
- Schafer K.S., Kegley S.E. **2006**. Persistent toxic chemicals in the US food supply. *J. Epidemiol. Commun. Health* 56, 813-817
- Scheidweiler K.B., Hüstis M.A. **2004**. Simultaneous quantification of opiates, cocaine and metabolites in hair by LC-APCI-MS/MS. *Anal. Chem.* 76, 4358-4363
- Scheyer A. **2004**. Développement d'une méthode d'analyse par CPG/MS/MS de 27 pesticides identifiés dans les phases gazeuse, particulaire et liquide de l'atmosphère. Application à l'étude des variations spatio-temporelles des concentrations dans l'air et dans les eaux de pluie. Thèse de doctorat présentée à l'Université Louis Pasteur à Strasbourg le 30 novembre 2004. 208 pages
- Scheyer A., Morville S., Mirabel P., Millet M. **2005**. A multiresidue method using ion-trap gas chromatography-tandem mass spectrometry with or without derivatization with pentafluorobenzylbromide for the analysis of pesticides in the atmosphere. *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 1226-1233
- Scheyer A., Morville S., Mirabel P., Millet M. **2006**. Analysis of trace levels of pesticides in rainwater using SPME and GC-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 384, 475-487

Scheyer A., Morville S., Mirabel P., Millet M. **2007**. Variability of atmospheric pesticide concentrations between urban and rural areas during intensive pesticide application. *Atmos. Environ.* 41, 3604-3618

Schlett C., Pfeifer P. **1992**. Bestimmung substituierter Phenole unterhalb des Geruchsschwellenwertes. *Vom Wasser* 79, 65-74

Schramm K.W., Kuettnner T., Weber S., Lutzke K. **1992**. Dioxin hair analysis as monitoring pool. *Chemosphere* 24(3), 351-358

Schramm K.W. **1997**. Hair: a matrix for non-invasive biomonitoring of organic chemicals in mammals. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59, 396-402

Schummer C., Sadiki M., Mirabel P., Millet M. **2006**. Analysis of t-butyldimethylsilyl derivatives of chlorophenols in the atmosphere of urban and rural areas in east of France. *Chromatographia* 63, 189-195

Schummer C., Appenzeller B.M.R., Wennig R. **2008**. Quantitative determination of ethyl glucuronide in sweat. *Ther. Drug Monit.* 30 (4), 1-4

Schummer C., Delhomme O., Appenzeller B.M.R., Wennig R., Millet M. **2009**. Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. *Talanta* 77, 1473-1482

Schummer C., Mothiron E., Appenzeller B.M.R., Rizet A.L., Wennig R., Millet M. **2010a**. Temporal variations of concentrations of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg, France. *Environ. Pollut.* 158, 576-584

Schummer C., Mothiron E., Appenzeller B.M.R., Wennig R., Millet M. **2010b**. Gas/particle partitioning of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg (France). *Air Qual. Atmos. Health* 3 (3), 171-181

Shafik M.T., Enos H.F. **1969**. Determination of metabolic and hydrolytic products of organophosphorus pesticide chemicals in human blood and urine. *J. Agric. Food Chem.* 17, 1186-1189

Sherson D., Sigsgaard T., Overgaard E., Loft S., Poulsen H.E., Jongeneelen F.J. **1992**. Interaction of smoking, uptake of polycyclic hydrocarbons, and cytochrome P450IA2 activity among foundry workers. *Br. J. Ind. Med.* 49, 197-202

Shoeib M., Harner T. **2002**. Characterization and comparison of three passive air samplers for persistent organic pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 36, 4142-4151

Shoeib M., Harner T., Wilford B.H., Jones K.C., Zhu J. **2005**. Perfluorinated sulfonamides in indoor and outdoor air and indoor dust: Occurrence, partitioning, and human exposure. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6599-6606

Silva M.J., Reidy J.A., Samandar E., Herbert A.R., Needham L.L., Calafat A.M. **2005**. Detection of phthalate metabolites in human saliva. *Arch. Toxicol.* 79, 647-652

Simoneit B.R.T., Bi X., Oros D.R., Medeiros P.M., Sheng G. **2007**. Phenols and Hydroxy-PAHs (arylphenols) as tracers for coal smoke particulate matter: source tests and ambient aerosol assessment. *Environ. Sci. Technol.* 41 (21), 7294-7302

Siwińska E., Mielżyńska D., Smolik E., Bubak A., Kwapiński J. **1998**. Evaluation of intra- and interindividual variation of urinary 1-hydroxypyrene, a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci. Tot. Environ.* 217 (1-2), 175-183

Skopp G., Schmitt G., Pötsch L., Drönner P., Aderjan R., Mattern R. **2000**. Ethyl glucuronide in human hair. *Alcohol* 35, 283-285

Smith C.J., Huang W., Walcott C.J., Turner W., Grainger J., Patterson D.G. **2002**. Quantification of monohydroxy-PAH metabolites in urine by solid-phase extraction with isotope dilution-GC-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 372, 216-220

Soler C., James K.J., Picó Y. **2007**. Capabilities of different liquid chromatography tandem mass spectrometry systems in determining pesticide residues in food: Application to estimate their daily intake. *J. Chromatogr. A* 1157 (1-2), 73-84

Strickland P., Kang D. **1999**. Urinary 1-hydroxypyrene and other PAH metabolites as biomarkers of exposure to environmental PAH in air particulate matter. *Toxicol. Lett.* 108, 191-199.

Sun P., Blanchard P., Brice K., Hites R.A. **2006**. Atmospheric organochlorine pesticide concentrations near the Great Lakes: temporal and spatial trends. *Environ. Sci. Technol.* 40 (21), 6587-6593

Tamakawa K. **2008**. Chapter 17 : Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Comprehen. Anal. Chem.* 51, 599-651

Tao S., Liu Y., Xu W., Lang C., Liu S., Dou H., Liu W. **2007**. Calibration of a passive sampler for both gaseous and particulate phase polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.* 41 (2), 568-573

Tao S., Cao J., Wang W., Zhao J., Wang W., Wang Z., Cao H., Xing B. **2009**. A passive sampler with improved performance for collecting gaseous and particulate phase polycyclic aromatic hydrocarbons in air. *Environ. Sci. Technol.* 43 (11), 4124-4129

Tasdemir Y., Vardar N., Odabasi M., Holsen T.M. **2004**. Concentrations and gas/particle partitioning of PCBs in Chicago. *Environ. Pollut.* 131, 35-44

Tasdemir Y., Esen F. **2007**. Urban air PAHs: Concentrations, temporal changes and gas/particle partitioning at a traffic site in Turkey. *Atmos. Res.* 84, 1-12

- Telch J., Jarvis D.A. **1982**. Acute intoxication with lindane (gamma benzene hexachloride). *Can. Med. Assoc. J.* 126 (6), 662-663
- Testard F., Zemb T. **1998**. Excess of solubilization of Lindane in nonionic surfactant micelles and microemulsions. *Langmuir* 14 (12), 3175-3181
- Thabet H., Brahmi N., Kouraïchi N., Elghord H., Amamou M. **2009**. Intoxications par les pesticides organophosphorés : nouveaux concepts. *Réanimation* 18 (7), 633-639
- Toriba A., Kuramae Y., Chetiyankornkul T., Kizu R., Maniko T., Nakazawa H., Hayakawa K. **2003**. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human hair by HPLC with fluorescence detection: a biological monitoring method to evaluate exposure to PAHs. *Biomed. Chromatogr.* 17, 126-132
- Tsatsakis A.M., Tutudaki M.I., Tzatzarakis M.N., Psaroudakis K., Dolapsakis G.P., Michalodimitrakis M.N. **1998**. Pesticide disposition in hair: preliminary results of a model study of methomyl incorporation into rabbit hair. *Vet. Human Toxicol.* 40 (4), 200-203
- Tsatsakis A., Tutudaki M. **2004**. Progress in pesticide and POPs hair analysis for the assessment of exposure. *Forensic Sci. Int.* 145, 195-199
- Tsatsakis A., Tzatzarakis M.N., Tutudaki M. **2008**. Pesticide levels in head hair samples of Cretan population as an indicator of present and past exposure. *Forensic Sci. Int.* 176, 67-71
- Tsatsakis A., Tutudaki M., Tzatzarakis M. **2009**. NATO Science for Peace and Security. Series A: chemistry and biology, counteraction to chemical and biological terrorism in east european countries. Springer Science + Business Media B.V., Netherlands 203-211
- Tsatsakis A.M., Barbounis M.G., Kavalakis M., Kokkinakis M., Terzi I., Tzatzarakis M.N. **2010**. Determination of dialkyl phosphates in human hair for the biomonitoring of exposure to organophosphate pesticides. *J. Chromatogr. B* 878 (17-18), 235-241
- Tuduri L., Harner T., Hayley H. **2006**. Polyurethane foam (PUF) disks passive air samplers: wind effect on sampling rates. *Environ. Pollut.* 144 (2), 377-383
- Tuomainen A., Kangas J.A., Meuling W.J.A., Glass R.C. **2002**. Monitoring of pesticide applicators for potential dermal exposure to malathion and biomarkers in urine. *Toxicol. Lett.* 134 (1-3), 125-132
- Tutudaki M., Tsatsakis A.M. **2005**. Pesticide hair analysis: development of a GC-NCI-MS method to assess chronic exposure to diazinon in rats. *J. Anal. Toxicol.* 29, 805-809
- Väänänen V., Hämeilä M., Kontsas H., Peltonen K., Heikkilä P. **2003**. Air concentrations and urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons among paving and remixing workers. *J. Environ. Monit.* 5, 739-746

Väänänen V., Elovaara E., Nykyri E., Santonen T., Heikkilä P. **2006**. Road pavers' occupational exposure to asphalt containing waste plastic and tall oil pitch. *J. Environ. Monit.* 8, 89-99

Van Audenhage M., Heraud F., Menard C., Bouyrie J., Morois S., Calamassi-Tran G., Lesterle S., Volatier J.L., Leblanc J.C. **2009**. Impact of food consumption habits on the pesticide dietary intake: comparison between a French vegetarian and the general population. *Food Addit. Contam.* 26 (10), 1372-1388

Van den Berg F., Kubiak R., Benjey W.G., Majewski M.S., Yates S.R., Reeves G.L., Smelt J.H., Van der Linden A.M.A. **1999**. Emission of the pesticides into the air. *Water Air Soil Pollut.* 115, 195-218

Van der Werf H.M.G. **1996**. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agric. Ecosyst. Environ.* 60, 81-96

Van Dijk H.F.G., Guicherit R. **1999**. Atmospheric dispersion of current-use pesticides: a review of the evidence from monitoring studies. *Water Air Soil Pollut.* 115, 21-70

Vasilic Z., Stengl B., Drevenkar V. **1999**. Dimethylphosphorous metabolites in serum and urine of persons poisoned by malathion or thiometon. *Chem. Biol. Interact.* 119-120, 479-487

Viel J.F., Challier B., Pitard A., Pobel D. **1998**. Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. *Arch. Environ. Health* 53, 65-70

Villain M., Cirimele V., Kintz P. **2004**. Hair analysis in toxicology. *Clin. Chem. Lab. Med.* 42(1), 1265-1272

Vucinic S., Jovanovic D., Vucinic Z., Jokosovic D., Segrt Z., Zlatkovic M., Jovanovic M. **2007**. A near-fatal case of acute poisoning by amitraz/xylene showing atrial fibrillation. *Forensic Toxicol.* 25 (1), 41-44

Waite D.T., Droneck N.R., Tuduri L., Sproull J.F., Chau D.F., Quiring D.V. **2005**. Comparison of active versus passive atmospheric samplers for current-use pesticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 74, 1011-1018

Wania F., Shen L., Lei Y.D., Teixeira C., Muir D.C.G. **2003**. Development and calibration of a resin-based passive sampling system for monitoring persistent organic Pollutants in the atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* 37, 1352-1359

Wang G., Kawamura X., Zhao Q., Li Z., Fai H. **2007**. Identification, abundance and seasonal variation of anthropogenic organic aerosols from a mega-city in China. *Atmos. Environ.* 41, 407-416

Wang X.P., Gong P., Yao T.D., Jones K.C. **2010**. Passive air sampling of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers across the Tibetan plateau. 2010. *Environ. Sci. Technol.* 44 (8), 2988-2993

Wennig R. **2000**. Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Sci. Int.* 107, 5-12

Wilford B.H., Harner T., Zhu J., Shoeib M., Jones K.C. **2004**. Passive sampling survey of polybrominated diphenyl ether flame retardants in indoor and outdoor air in Ottawa, Canada: Implications for sources and exposure. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5312- 5318

WHO (World Health Organization). **2000**. Air Quality Guidelines, 2<sup>nd</sup> edition. Chapter 5.9: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). 1-24

WHO (World Health Organization). **2004**. Fact sheet N° 281: Health-care waste management. To reduce the burden of disease, health-care waste needs sound management, including alternatives to incineration. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs281/en/>

WHO (World Health Organization). **2007**. Fact sheet N° 225: Dioxins and their effects on human health. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/en/>

Wilhelm M., Wittsiepe J., Fürst P., Hölzer J., Eberwein G., Ewers U., Angerer J., Marczynski B., Kraft M., Ranft U. **2007**. HBM in North Rhine Westphalia, Germany. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210, 307-318

Wittsiepe J., Schrey P., Ewers U., Selenka F., Wilhelm M. **2000**. Decrease of PCDD/F levels in human blood from Germany over the past ten years (1989-1998). *Chemosphere* 40, 1103-1109

Wylie F.M., Torrance H., Anderson R.A., Oliver J.S. **2005**. Drugs in oral fluid part I. Validation of an analytical procedure for licit and illicit drugs in oral fluid. *Forensic Sci. Int.* 150, 191-198

Xu H., Zhang Q., Chen J., Wang L., Anderson G.K. **1999**. Adsorption of naphthalene derivatives on hypercrosslinked polymeric adsorbents. *Chemosphere* 38 (9), 2003-2011

Xu S.S., Liu W.X., Tao S. **2006**. Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons in China. *Environ. Sci. Technol.* 40, 702-708

Xue W., Warshawsky D. **2005**. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: a review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 206 (1), 73-93

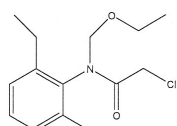
Yacoubian G.S., Wish E.D., Perez D.M. **2001**. A comparison of saliva testing to urinalysis in an arrestee population. *J. Psychoactive Drugs* 33 (3), 289-294



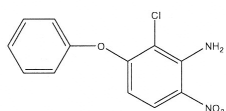
- Yao Y., Tuduri L., Harner T., Blanchard P., Waite D., Poissant L., Murphy C., Belzer W., Aulagnier F., Li Y.F., Sverko E. **2006**. Spatial and temporal distribution of pesticide air concentrations in Canadian agriculture. *Atmos. Environ.* 40 (23), 4339-4351
- Yegles M., Labarthe A., Auwärter V., Hartwig S., Vater H., Wennig R., Pragst F. **2004**. Comparison of ethyl glucuronide and fatty acid ethyl ester concentrations in hair of alcoholics, social drinkers and teetotalers. *Forensic Sci. Int.* 145, 167-173
- Yeo H.G., Choi M., Chun M.Y., Sunwoo Y. **2003**. Gas/particle concentrations and partitioning of PCBs in the atmosphere of Korea. *Atmos. Environ.* 37, 3561-3570
- Yonamine M., Tawil N., Moreau de Moares R.L., Silva A.O. **2003**. Solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and headspace-gas chromatography of tetrahydrocannabinol, amphetamine, methamphetamine, cocaine and ethanol in saliva samples. *J. Chromatogr. B* 789, 73-78
- Zhang H., Chai Z., Sun H. **2007**. Human hair as a potential biomonitor for assessing persistent organic pollutants. *Environ. Int.* 33, 685-693
- Zhang Y., Tao S. **2008**. Seasonal variations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) emissions in China. *Environ. Pollut.* 156, 657-663
- Zhang Y., Tao S. **2009**. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004. *Atmos. Environ.* 43, 812-819
- Zhao Z.H., Quan W.Y., Tian D.H. **1992**. Experiments on the effects of several factors on the 1-hydroxypyrene level in human urine as an indicator of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Sci. Tot. Environ.* 113 (3), 197-207
- Zhu L., Takahashi Y., Amagai T., Matsushita H. **1997**. Highly sensitive automatic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor and outdoor air. *Talanta* 45, 113-118
- Zhu F., Ruan W., He M., Luan T., Tong Y., Lu T., Ouyang G. **2009**. Application of solid-phase microextraction for the determination of organophosphorus pesticides in textiles by gas chromatography with mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 650 (2), 202-206
- Zielhuis R.L. **1984**. Recent and potential advances applicable of the protection of workers' health – biological monitoring. II. Dans: Berlin A., Yodaiken R.E., Henman B.A. 1984. Assessment of toxic agents at the workplace – roles of ambient and biological monitoring. Martinus Nijhoff Publishers, Boston.
- Zohair A., Salim A.B., Soyibo A.A., Beck A.J. **2006**. Residues of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides in organically-farmed vegetables. *Chemosphere* 63 (4), 541-553

## **Chapitre VI : Annexes**

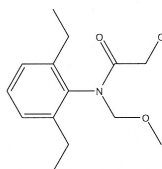
## VI.1. Structures développées des pesticides étudiés



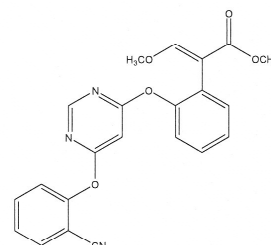
Acétochlore



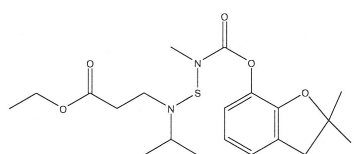
Aclonifen



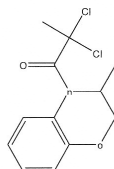
Alachlore



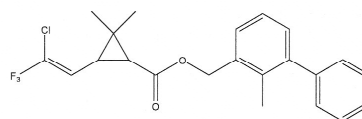
Azoxystrobine



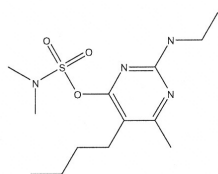
Benfuracarbe



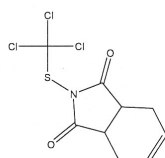
Bénéoxacor



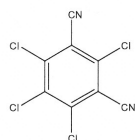
Bifenthrine



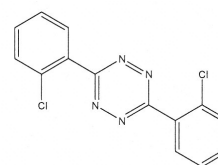
Bupirimate



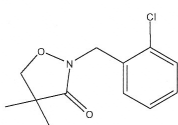
Captane



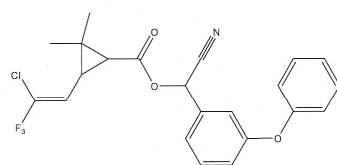
Chlorothalonil



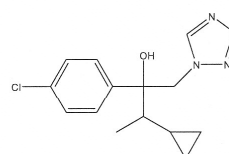
Clofentézine



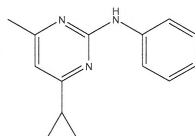
Clomazone



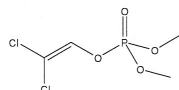
λ-Cyhalothrine



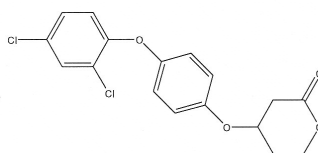
Cyproconazole



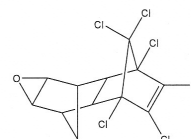
Cyprodinil



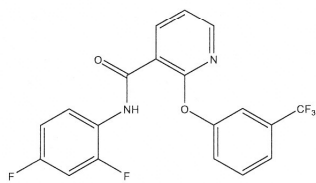
Dichlorvos



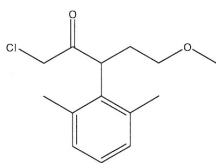
Diclofop-methyl



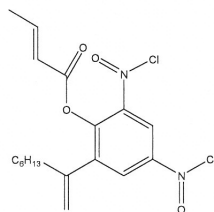
Dieldrine



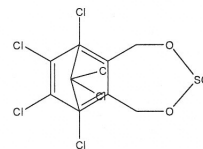
Diflufenicanil



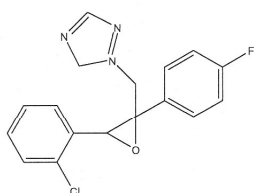
Diméthachlore



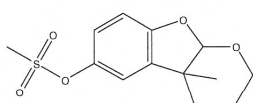
Dinocap



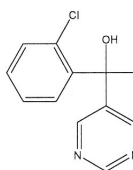
Endosulfan



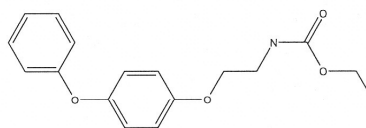
Epoxiconazole



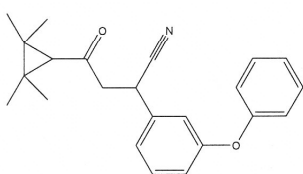
Ethofumesate



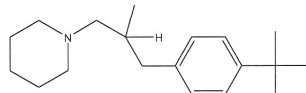
Fénarimol



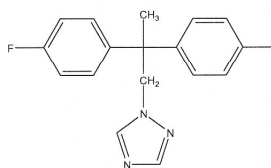
Fénoxycarbe



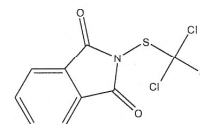
Fenpropathrine



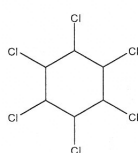
Fenpridine



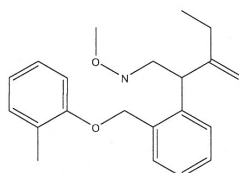
Flusilazole



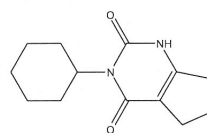
Folpel



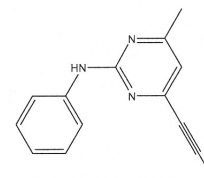
HCH



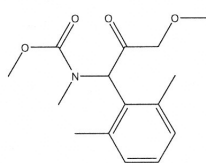
Kresoxim-méthyl



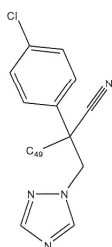
Lenacile



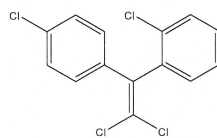
Mepanipirim



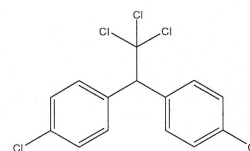
Metalaxyl-M



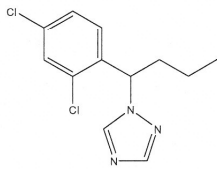
Myclobutanil



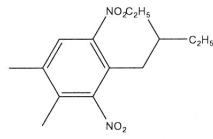
DDE



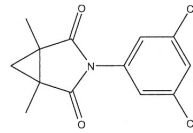
DDT



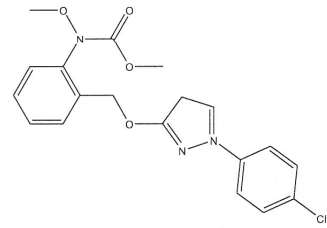
Penconazole



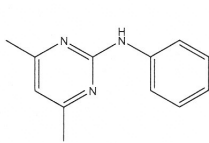
Pendiméthaline



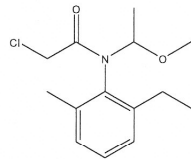
Procymidon



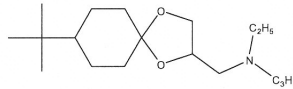
Pyraclostrobine



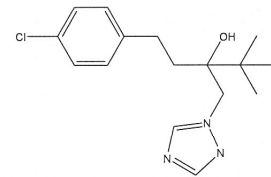
Pyriméthamil



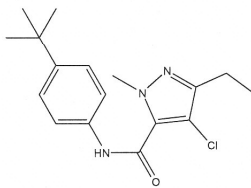
S-Metolachlore



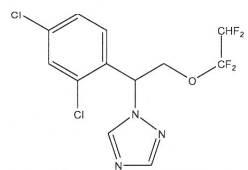
Spiroxamine



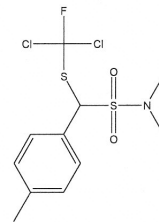
Tébuconazole



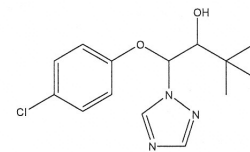
Tébufenpyrad



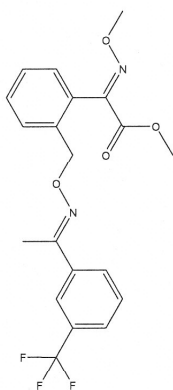
Tétraconazole



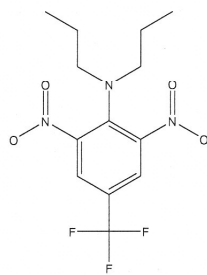
Tolyfluanide



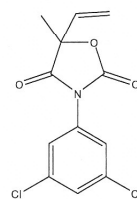
Triadimenol



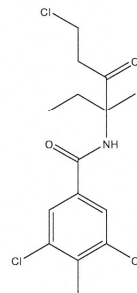
Trifloxystrobine



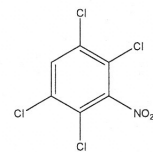
Trifluraline



Vinchlozoline



Zoxamide



Tecnazène