



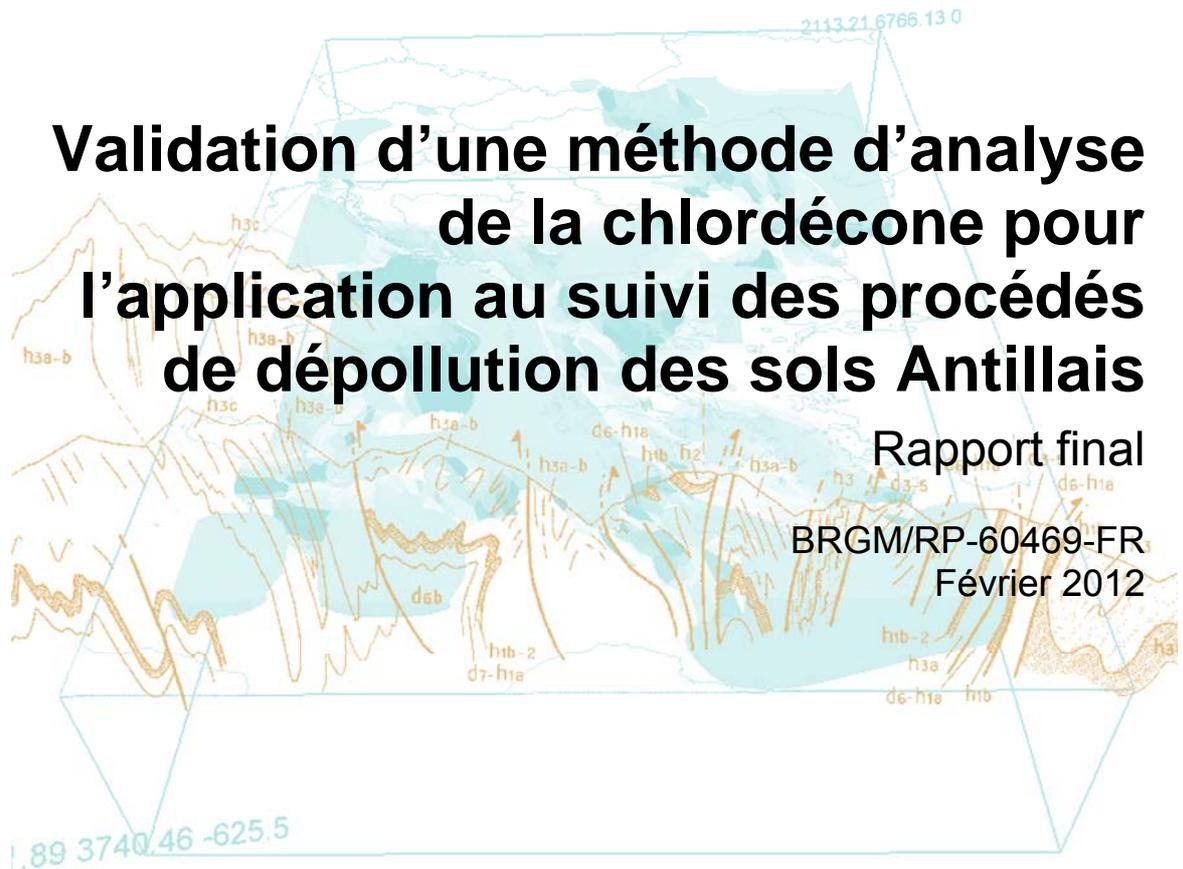
Document public

Validation d'une méthode d'analyse de la chlordécone pour l'application au suivi des procédés de dépollution des sols Antillais

Rapport final

BRGM/RP-60469-FR

Février 2012



Géosciences pour une Terre durable

brgm

Validation d'une méthode d'analyse de la chlordécone pour l'application au suivi des procédés de dépollution des sols Antillais

Rapport final

BRGM/RP-60469-FR
Février 2012

Étude réalisée dans le cadre des projets
de Service public et de Recherche du BRGM 2010.

S. Bristeau

Avec la collaboration de

L.Amalric, C.Mouvet

Vérificateur :

Nom : JP.Ghestem

Date : 15/02/2012

Signature :

Approbateur :

Nom : G.Hervouet

Date : 17/02/2012

Signature :

En l'absence de signature, notamment pour les rapports diffusés en version numérique,
l'original signé est disponible aux Archives du BRGM.

Le système de management de la qualité du BRGM est certifié AFAQ ISO 9001:2010.

Mots clés : Validation – Chlordécone – ASE – GC/MSMS – Sols.

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

Bristeau S. avec la collaboration de Amalric.L, C.Mouvet (2012) - Validation de la méthode d'analyse de la chlordécone pour l'application au suivi des procédés de dépollution des sols Antillais. Rapport final. BRGM/RP-60469-FR, 64p., 25 fig., 26 tabl.

© BRGM, 2012, ce document ne peut être reproduit en totalité ou en partie sans l'autorisation expresse du BRGM.

Synthèse

La problématique « Chlordécone aux Antilles » est un enjeu environnemental, social et économique majeur. La chlordécone insecticide utilisé en bananeraies, persiste dans les sols et dans les eaux, engendrant une interdiction de la consommation de certains végétaux et poissons. Par ailleurs, un lien entre l'exposition à la chlordécone et le taux de cancer de la prostate a été mis en évidence (Multigner et al., 2010).

Le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer a mandaté en 2009 le BRGM, par les conventions SU 000 6693 MEEDDM/DGPR et SU 000 7446 MEEDDM/DGPR, pour travailler sur la décontamination de sols antillais (andosol, nitisol, ferralsol) contenant de la chlordécone. Par ailleurs, la convention INRA-11-AAP DEMICHLORD-02-01 inclut des développements analytiques à effectuer par le BRGM pour l'analyse de chlordécone dans les sols.

Deux procédés de dépollution des sols ont été testés au BRGM ; ils impliquent l'ajout de compost, jusqu'à 30% en masse, pour le procédé Biogénie, et l'ajout, jusqu'à 12% en masse, d'un mélange de Fer(0) (45%) et de matière organique végétale (55 %) pour le procédé Daramend®. Les fortes teneurs naturelles en matière organique des sols, notamment l'andosol (jusqu'à 13 – 15 %), et ces ajouts de matières organiques exogènes entraînent, après extraction des sols, une matrice très chargée.

Pour répondre aux besoins du projet de décontamination, une méthode analytique a été développée pour l'analyse de la chlordécone, la 5b-hydrochlordécone et la dihydrochlordécone dans les 3 principaux types de sols Antillais : Ferralsol (Frl), Andosol (And) et Nitosol (Nit). La méthode consiste en une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Triple quadripôle) après une extraction par fluide pressurisé.

Les essais préliminaires ont permis la mise au point des conditions analytiques (séparation, identification et quantification) et de l'extraction (rendement d'extraction). La méthode inclut l'emploi d'un traceur d'extraction (transnonachlore) pour corriger les résultats, et un étalon interne chlordécone-13C pour mimer au mieux le comportement de la molécule d'intérêt et supprimer les effets éventuels lors de son analyse (interaction avec les solvants, effet matrice, fixation sur l'insert/colonne de la GC).

Les différentes caractéristiques de la méthode : étalonnage (linéaire), répétabilité (coefficient de variation $\leq 10\%$), reproductibilité (coefficient de variation $\leq 10\%$), spécificité de la méthode (avec et sans ajout de matière organique exogène), limite de quantification (0,03 mg/kg) et efficacité de l'extraction sont étudiées pour l'ensemble des 3 sols en adaptant la norme NF T 90-210 (2009) dédiée à l'eau. L'incertitude élargie ($k=2$) associée au résultat est de 40% pour des teneurs en chlordécone jusqu'à 1 mg/kg, et de 30% pour des valeurs supérieures à 1mg/kg.

La justesse est évaluée uniquement par l'intermédiaire de taux de récupération par dopage du sol. Aucun essai inter-laboratoire et aucun essai matériau de référence ne sont disponibles pour cette méthode.

La méthode d'analyse a été accréditée par le Cofrac dans le cadre de la portée flexible du service MMA du BRGM (Décembre 2011).

Sommaire

1. Introduction	13
2. Les substances	15
2.1. LA CHLORDECONE.....	15
2.1.1. Propriétés physico-chimiques.....	15
2.1.2. Stabilité dans l'eau / hydratation.....	17
2.2. LA 5B-HYDROCHLORDECONE.....	19
2.3. LA DIHYDROCHLORDECONE.....	19
3. Pré-validation	21
3.1. MISE EN PLACE DE LA METHODE D'ANALYSE (GC/MS).....	21
3.1.1. Interaction des solvants avec la chlordécone.....	21
3.1.2. Choix du traceur d'extraction.....	23
3.1.3. Comportement des composés en chromatographie gazeuse : ajouts dosés et agents protecteurs.....	25
3.1.4. Choix du standard interne.....	28
a) Choix du composé.....	28
b) Choix des paramètres de détection du CLDC13 et CLD en spectrométrie de masse.....	29
3.1.5. Nécessité des ajouts dosés.....	32
3.1.6. Estimation de la limite de quantification instrumentale de la chlordécone dans le solvant.....	34
3.1.7. Stabilité du système d'injection.....	36
3.2. ESSAIS D'EXTRACTION.....	36
3.2.1. Efficacité de l'extraction dans une matrice « simple/propre ».....	36
3.2.2. Extraction jusqu'à épuisement des sols de l'étude.....	37
3.2.3. Cas des sols Andosols : fermeture de la microporosité des sols Andosols.....	37
4. Méthode d'analyse retenue	39
5. Validation	43
5.1. ETUDE DE LA FONCTION D'ETALONNAGE.....	43
5.2. ETUDE DE L'EFFICACITE DE L'EXTRACTION.....	45

5.3. ETUDE DE LA SPECIFICITE.....	48
5.4. LA LIMITE DE QUANTIFICATION	51
5.4.1. Estimation de la limite de quantification	51
5.4.2. Vérification de la limite de quantification	52
5.5. REPETABILITE ET REPRODUCTIBILITE DE LA METHODE	56
5.6. INCERTITUDE DE LA METHODE	57
6. Conclusion.....	61
7. Remerciements.....	62
8. Bibliographie	63

Liste des figures

Figure 1 : Représentation de la chlordécone	15
Figure 2 : Spectre IR de la chlordécone sous sa forme gazeuse	18
Figure 3 : Hydratation d'un composé carbonylé et formation d'un gem-diol (Dupuis, 2005).	18
Figure 4: Droite d'étalonnage de la CLD obtenue pour les solvants 1 / solvant 2 utilisés pour la préparation des solutions mère et fille et de la gamme d'étalonnage; Pourcentages affichés : % solvant1 pour chaque niveau de concentration	22
Figure 5: Formule du mirex	23
Figure 6 : Formule du transnonachlore.....	24
Figure 7 : Taux de récupération du CLD avec/sans prise en compte du traceur (TNC)	25
Figure 8 : Présence de kepol (en vert à 10.3 min) après injection d'un extrait de sol contenant du CLD (1.4 mg/kg) (en rouge à 9.4 min) et ajout d'un agent protectant (D-sorbitol).....	27
Figure 9 : Influence de la matrice sur l'aire des standards interne CB53 et CLD13.....	28
Figure 10 : Evolution de l'intensité du pic de la chlordécone C13 en fonction de l'ajout de la chlordécone (0 à 10mg/l) pour une même teneur en chlordécone C13 (0.4mg/l).	32
Figure 11 : Teneur moyenne retrouvée (n=5) par quantification sur base de l'étalon interne CLD13 et par méthode des ajouts dosés dans les 3 sols avec ajout de matière organique (barre d'erreur = écart-type associé des 5 valeurs).....	33
Figure 12 : Moyenne des teneurs retrouvées (n=3) par étalonnage et ajout dosé en CLD-5bhydro dans un sol Andosol sans ajout de traitement (sol 1) et un autre sol Andosol avec ajout de 12% du traitement Daramend® (sol 2) avec prise en compte de l'incertitude à 40% pour ce niveau de concentration.	34
Figure 13 : Etalonnage interne de la CLD avec le standard interne CLD13.....	35
Figure 14 : Chromatogrammes GC/MS de la chlordécone, chlordécone-5bhydro, transnonachlore et CB53 à 50 µg/l et de la CLD13 à 200 µg/l dans le cyclohexane.	41
Figure 15 : Concentration en CLD préparée en fonction de la teneur retrouvée par la droite d'étalonnage.....	43
Figure 16: Biais observés (en %) pour l'étude de l'étalonnage de la chlordécone.....	44
Figure 17 : Biais observés (en %) pour l'étude de l'étalonnage de la chlordécone-5bhydro	44
Figure 18 : Biais observés (en %) pour l'étude de l'étalonnage du transnonachlore.	44
Figure 19 : Biais observés en fonction du type de sol et de la teneur en CLD.....	47
Figure 20 : Teneur en CLD mesurée dans l'Andosol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude ± 30%).....	49
Figure 21 : Teneur en CLD-5bhydro mesurée dans l'Andosol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude ± 40%).....	50
Figure 22 : Teneur en CLD mesurée dans le Ferralsol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude ± 30%).....	50

Figure 23 : Teneur en CLD mesurée dans le Nitisol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude $\pm 30\%$)	51
Figure 24 : Vérification des 2 niveaux de LQ présumées par rapport à $\pm 60\% \times LQ$ (Moyenne des 12 teneurs retrouvées ; barre d'erreur = $2 \times S_{Fi}$; en pointillée rouge = EMA de 60%).	55

Liste des tableaux

<i>Tableau 1 : Propriétés physiques et chimiques de la chlordécone</i>	16
Tableau 2 : Solubilité de la chlordécone en fonction du pH en solution (Dawson et al. 1979)	17
Tableau 3 : Influence de l'ajout d'acétone sur la réponse de la CLD	23
Tableau 4 : m/z spécifique de la CLD et CLD13 pour le fragment C ₅ Cl ₆ obtenu en impact électronique	29
Tableau 5 : Aire de la CLD13 retrouvée en fonction de la CLD ajoutée (0 à 10 mg/l)	31
Tableau 6 : Teneur retrouvée et biais% observé pour 10 injections successives d'un standard à 15.7 µg/l en CLD	35
Tableau 7 : Taux de récupération de la CLD dans le sable de fontainebleau après dopage à 0.1, 1 et 10 mg/kg.	36
Tableau 8 : Teneur en chlordécone dans l'andosol humide et après séchage.	38
Tableau 9 : Teneur moyenne en chlordécone dans les sols bruts et après séchage et l'incertitude associée.....	38
Tableau 10 : Paramètres de détection en GC/MSMS (impact électronique) des étalons utilisés pour l'étude.	40
Tableau 11 : EMA autorisés sur les points d'étalonnage.....	45
Tableau 12 : Taux de récupération de la chlordécone dans le Nitisol (2 réplicats par niveau).....	46
Tableau 13 : Taux de récupération de la chlordécone dans le Ferralsol (2 réplicats par niveau).....	46
Tableau 14 : Taux de récupération de la chlordécone dans l'Andosol (2 réplicats par niveau).....	46
Tableau 15: Teneur en CLD mesurée sans et avec ajout de matière organique exogène dans l'andosol	48
Tableau 16 : Teneur en CLD mesurée sans et avec ajout de matière organique exogène dans le nitisol.....	49
Tableau 17: Teneur en CLD mesurée sans et avec ajout de matière organique exogène dans le ferralsol.....	49
Tableau 18: Rendement d'extraction après dopage à 0.1 et 0.25 mg/kg en CLD du sol NIT et FRL.....	52
Tableau 19 : Taux de récupération en chlordécone après dopage à 0.03 mg/kg dans les sols NIT, AND et FRL avec r1 et r2 répétabilité	53
Tableau 20 : Taux de récupération en chlordécone après dopage à 0.05 mg/kg dans les sols NIT, AND et FRL avec r1 et r2 répétabilité	53
<i>Tableau 21 : Variabilité des résultats à 0.03 mg/kg et 0.05 mg/kg en chlordécone dans les 3 sols en répétabilité (extraction doublée), reproductibilité (6 jours différents) et fidélité intermédiaire - avec : S_r, écart-type de répétabilité ; S_R écart-type inter-série ; S_{FI} écart-type de fidélité intermédiaire ; CV_r coefficient de variation de répétabilité ; CV_R coefficient inter-série ; CV_{FI} coefficient de variation de fidélité intermédiaire.....</i>	54

Tableau 22 : Vérification des 2 niveaux de LQ présumées par rapport à +/- 60% x LQ.....	54
Tableau 23 : Teneurs en chlordécone et chlordécone-5bhydro dans les 3 sols obtenues en répétabilité (extraction doublé) et en reproductibilité (5 jours différents = 5 séries) ; avec r1 et r2 répétabilité).....	56
Tableau 24 : Variabilité des résultats de la chlordécone et chlordécone-5bhydro dans les 3 sols en répétabilité (extraction doublé), reproductibilité (5 jours différents) et fidélité intermédiaire (repet/repro) ; avec : Sr, écart-type de répétabilité ; SR écart-type inter-série ; SFI écart-type de fidélité intermédiaire ; CVr coefficient de variation de répétabilité ; CVR coefficient inter-série ; CVFi coefficient de variation de fidélité intermédiaire.....	57
Tableau 25 : Calcul de l'incertitude élargie (k=2) de la CLD en fonction de sa teneur dans les sols.....	58
Tableau 26 : Incertitude (k=2) de la CLD en fonction de sa teneur dans les sols.....	59

1. Introduction

La chlordécone est un pesticide organochloré persistant, pouvant se concentrer dans les organismes vivants, cancérigène possible et perturbateur endocrinien potentiel chez l'homme. Il a été utilisé durant de nombreuses années dans les départements français des Antilles pour lutter contre le charançon du bananier. Malgré l'interdiction de son utilisation au début des années 1990, cette molécule, très persistante, contamine encore une partie des sols et des eaux des deux départements de la Martinique et de la Guadeloupe, et se retrouve dans les produits alimentaires d'origine végétale et animale, essentiellement piscicole. Cette contamination constitue, par son ampleur et sa persistance dans le temps, une préoccupation sanitaire, environnementale, agricole, économique et sociale d'importance.

Prise en compte dans le Plan National Santé Environnement (PNSE) adopté en 2004, la contamination a mobilisé l'Etat et ses opérateurs, au sein de plans locaux lancés par les préfets avec l'appui des comités de bassin dès 1999. Depuis 2002, l'AFSSA est saisie de la question du risque lié à l'exposition alimentaire de la population antillaise au chlordécone, et a fixé en 2003 deux limites tolérables d'exposition pour l'homme. Une première évaluation de l'exposition de la population martiniquaise à la chlordécone a été réalisée en 2005. Le gouvernement a mis en place un plan d'action, conçu dans la concertation à la fin de l'année 2007, avec tous les partenaires associés afin de renforcer les actions et mesures concernant cette contamination : le plan national d'action Chlordécone 2008-2010 (PNAC I). Un second plan d'action pour la période 2011 à 2013 s'inscrit dans la continuité du premier.

Le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer a mandaté en 2009 le BRGM, par les conventions SU 000 6693 MEEDDM/DGPR et SU 000 7446 MEEDDM/DGPR, pour travailler sur la décontamination de sols antillais (andosol, nitisol, ferralsol) contenant de la chlordécone.

La problématique environnementale posée par la chlordécone dans les Antilles Françaises est amplifiée par la nature des sols contaminés ; ces sols volcaniques se caractérisent notamment par une teneur élevée en argile (dont les allophanes, spécifiques des andosols, qui possèdent des caractéristiques très particulières) et en matière organique (jusqu'à 13 - 15 % dans les andosols).

De plus, les deux procédés de dépollution testés au BRGM impliquent l'ajout de matière organique exogène (jusqu'à 50 % en volume par rapport au sol). Les fortes teneurs naturelles en matière organique des andosols et ces ajouts de matières organiques exogènes entraînent des extraits de sol dont la matrice est très chargée.

Il a donc été nécessaire, en préalable aux essais de décontamination, de disposer d'une méthode d'analyse fiable qui prenne en compte la variabilité naturelle de la matrice et son évolution au cours de l'application des procédés de décontamination.

Le présent rapport détaille le travail de validation de la méthode d'analyse par extraction à chaud sous pression et analyse par chromatographie en phase gazeuse.

La chlordécone (CLD) ne fait pas l'objet de méthode normalisée (type AFNOR) pour son analyse dans les matrices environnementales. Les articles consacrés à l'analyse de la CLD se résument en général à des mises au point effectuées sur des solutions étalons (Cairns et al., 1982 ; Fariss et al., 1982; Moriwaki, 2004). Seuls deux articles sont consacrés aux extractions et dosages de la CLD dans les sols antillais (Amalric et al., 2004 et Brunet et al., 2009).

La première méthode d'analyse pour le dosage de la chlordécone dans les sols, développée au BRGM en 2003, consiste en une extraction automatisée sous pression à chaud (ASE®) suivie d'une méthode de purification, puis une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la détection par spectrométrie de masse (quadripôle) ; elle permet une limite de quantification de 1 mg/kg de sol. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication internationale (Amalric et al; 2004) et de l'accréditation de la méthode d'analyse par le Cofrac, dans le cadre de la portée flexible, en décembre 2011.

Un autre article présente des résultats intéressants par spectrométrie infra-rouge pour l'analyse des andosols Antillais (Brunet et al., 2009). Cette analyse est basée sur un traitement statistique de raies de spectre qui nécessite une calibration préalable ; par ailleurs, le procédé révèle une mauvaise corrélation par rapport à une analyse en chromatographie gazeuse couplée à de la spectrométrie de masse pour des teneurs élevées en CLD (>12 mg/kg). L'analyse des produits de transformation de la CLD n'a pas été tentée par cette méthode.

Il est nécessaire d'améliorer la méthode d'analyse actuelle du laboratoire (Amalric et al, 2004) pour répondre aux exigences suivantes :

- abaisser la limite de quantification de la chlordécone pour la rendre compatible avec les valeurs seuils, 0.1 à 0.25 mg/kg selon le type de sol et le type de culture (Cabidoche Y-M. et al, 2006), susceptibles d'entraîner une contamination des végétaux,
- ajouter un traceur mimant le comportement de la chlordécone dès le début du traitement de l'échantillon afin de tenir compte de toutes les variations éventuelles et particularités des échantillons du projet, la typologie pédologique initiale et l'augmentation de la teneur en matière organique due aux procédés de remédiation étudiés.

Pour optimiser les résultats de cette étude, un équipement spécifique a été mis en œuvre. Il s'agit d'un chromatographe en phase gazeuse (GC 450 Bruker) couplé à la spectrométrie de masse triple quadripôle (300MS Bruker) offrant une grande sensibilité pour des matrices complexes, une vitesse d'acquisition importante et donc une meilleure quantification.

2. Les substances

La méthode analytique doit permettre l'analyse de la chlordécone et de ses produits de dégradation déjà référencés dans la bibliographie (*Borsetti et al ; 1978*) à savoir la chlordécone-5bhydro et la dihydrochlordécone, dans les sols Nitisol, Ferralsol et Andosol.

2.1. LA CHLORDECONE

La chlordécone est le nom commun de l'insecticide chloré : decachlorooctahydro-1,3,4-metheno-2H-cyclobuta (cd) pentalen-2-one, lequel est également commercialisé sous le nom de kepone. Le n° CAS de la chlordécone est le 143-50-0.

La chlordécone a 10 chlores à 10 positions CAS différentes : 1, 1a, 3, 3a, 4, 5, 5, 5a, 5b, 6 (*Figure 1*).

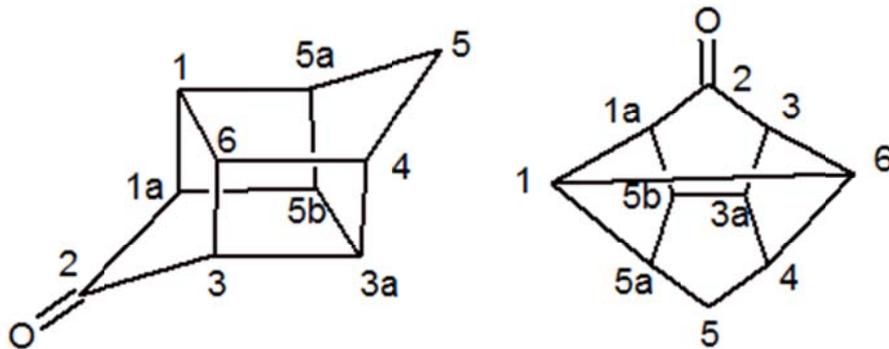


Figure 1 : Représentation de la chlordécone

2.1.1. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physiques et chimiques de la chlordécone sont indiquées dans le *Tableau 1*.

Tableau 1 : Propriétés physiques et chimiques de la chlordécone.

Propriété	Unité	Valeur	Source
Formule brute		C ₁₀ Cl ₁₀ O	
Poids moléculaire	g/mole	490,6	
Aspect à température et pression normales		Solide cristallin de couleur allant du fauve au blanc	CIRC, 1979 ¹
Pression de vapeur	Pa	3,0.10 ⁻⁵ (25 °C) < 4,0.10 ⁻⁵ (25 °C) 4,0.10 ⁻⁵ (25 °C)	Kilzer, I <i>et al.</i> 1979 ² CIRC, 1979 ¹ HSG 41, PISC, 1990
Solubilité dans l'eau	mg/l	0,35-1,0* 1-2 2,7 (25 °C) 3,0	HSG 41, PISC, 1990 EHC 43, PISC, 1990 Kilzer, I <i>et al.</i> 1979 ² Kenaga, 1980
Point de fusion	°C	350; (décomposition)	CIRC, 1979 ¹
Point d'ébullition	°C	Aucune donnée disponible	
Log K _{oe}		4,50 5,41	Howard, 1991 ¹ Hansch <i>et al.</i> 1995 ²
Log K _{ae}		-6,69	Scheringer <i>et al.</i> 2006
Log K _{co}		3,38-3,415	Howard, 1991 ¹

¹: Extrait du rapport US ATSDR, 1995, ²: Extrait de la base de données accessible à l'adresse (<http://esc.syrres.com/interkow/webprop.exe>)

La chlordécone a pour particularité d'être peu soluble dans l'eau, 1-2 mg/l (à 20°C) pour les faibles pH acides et pH neutres. D'après Dawson et al. (1979), sa solubilité augmenterait rapidement dans des gammes de pH supérieures à 9 (Tableau 2).

pH	Solubilité de la chlordécone (mg/l)
4	1.75
7	2.22
8	2.37
8.5	2.44
9	3.96
9.4	4.79
9.4(NaHCO ₃)	15.8
9.6	24.8
9.8	46.8
10	68.8
10.9	176

Tableau 2 : Solubilité de la chlordécone en fonction du pH en solution (Dawson et al. 1979)

Cette molécule est par ailleurs très lipophile avec un coefficient de partage octanol/eau de 5; elle est soluble dans les solvants organiques (hexane et benzène) sous forme anhydre. Comme les autres organochlorés, elle se classe parmi les pesticides non ionisables.

2.1.2. Stabilité dans l'eau / hydratation

Le standard de la chlordécone est commercialisé sous sa forme hydratée (*Figure 3*) qui est la plus stable puisque la molécule mère est hygroscopique.

Ce standard n'est pas disponible sous la forme non hydratée et cette précision n'est pas donnée par tous les fournisseurs. Notre fournisseur (Cil cluzeau) commercialise le standard sous le nom chlordécone hydrate sous forme solide (réf : C 11220000).

Les analyses menées par Infra-rouge (IR) sur le solide ont permis de mettre son hydratation en évidence. Le spectre de la chlordécone (en réflexion totale atténuée et en transmission) ne montre pas de raies dans le domaine vers 1700 – 1800 cm⁻¹ domaine caractéristique des cétones. Par contre on observe des raies dans le domaine au-dessus de 3000 cm⁻¹ qui correspond aux raies caractéristiques des vibrations des liaisons OH.

Ce n'est donc pas de la chlordécone qui est présente mais bien la chlordécone hydratée.

Le spectre IR de la chlordécone référencé dans la littérature sous sa forme gazeuse (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>) est le suivant :

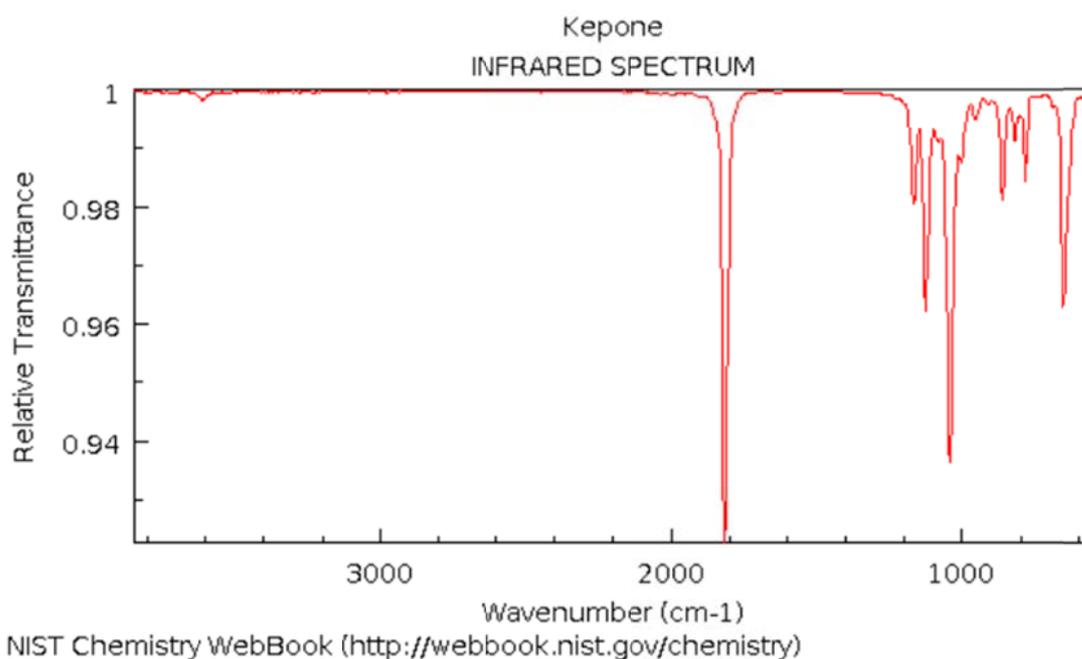


Figure 2 : Spectre IR de la chlordécone sous sa forme gazeuse

La raie caractéristique de la cétone à 1800 cm^{-1} est bien présente mais le composé est sous forme gazeuse donc déshydraté. Lors de l'analyse en chromatographie gazeuse, l'injection du composé à chaud (environ 250°C) laisse supposer que cette déshydratation sera également observée.

La chlordécone est susceptible d'évoluer vers une forme plus soluble en fonction des conditions du milieu. En effet, comme les autres cétones, elle subit en milieu acide et en milieu basique une réaction d'hydratation à l'issue de laquelle se forme un "gem-diol" appelé chlordécone-hydrate, soluble en phase aqueuse et qualifié d'instable (Figure 3).



Figure 3 : Hydratation d'un composé carbonylé et formation d'un gem-diol (Dupuis, 2005).

2.2. LA 5B-HYDROCHLORDECONE

La formule brute de la 5b-hydrochlordécone est $C_{10}Cl_9HO$. Ce produit de dégradation de la chlordécone correspond à une perte d'un chlore remplacé par un hydrogène en position 5b (nomenclature CAS). Ce composé est proposé par la société Dr Ehrenstorfer mais qui ne fournit pas de n° CAS.

Le numéro CAS de l'hydrochlordécone est le n° CAS 53308-47-7 et a 2 synonymes : 1, 3, 4-Metheno-2H-cyclobuta [cd] pentalen-2-one, -1, 1a, 3, 3a, 4, 5, 5, 5a, 5b-nonachlorooctahydro- et 1,3,4-Metheno-2H-cyclobuta [cd]pentalen-2-one- 1, 1a, 3, 4, 5, 5, 5a, 5b, 6- nonachlorooctahydro-. Ce composé correspondrait donc à une perte d'hydrogène de la chlordécone en position 6 ou 3a.

Le produit peut perdre un chlore pour un hydrogène sur une des 10 positions : 1, 1a, 3, 3a, 4, 5, 5, 5a, 5b, 6. D'après les représentations du composé (*Figure 1*), les composés avec une perte de chlore en 1, 6, 3a ou 5b sont similaires et correspondent au même composé.

Le composé chlordécone-5bhydro correspond donc au n° CAS 53308-47-7 appelé également hydrochlordécone.

La chlordécone-5bhydro est la seule à être commercialisée : il existe toutefois de nombreuses formules possibles pour une monodéchloration de la chlordécone.

Ce composé est également hygroscopique et s'hydrate comme la chlordécone.

2.3. LA DIHYDROCHLORDECONE

La littérature scientifique (Harless et al., 1978 ; Huckins et al., 1982) mentionne la formation de dihydrochlordécone lors de la dégradation microbologique de la chlordécone. Cette molécule n'est pas disponible en tant qu'étalon analytique.

La consultation menée auprès de grandes sociétés mondiales (Sigma-Aldrich, Moravek, Quotient Bioresearch, LGC Standards, Dr Ehrenstorfer Reference Materials (CIL-Cluzeau)) susceptibles de synthétiser cette molécule s'est soldée par un échec. La société @rtmolecule a accepté de conduire une étude de faisabilité dans un premier temps. Sur base de la littérature scientifique et de leur expérience, cette société a retenu une méthode de réduction de la chlordécone par voie photochimique avec un catalyseur au palladium et à l'aide d'un organolithien. Malgré les efforts investis par cette société, la dihydrochlordécone n'a pu être synthétisée, l'étude de faisabilité n'ayant pas montré les performances suffisantes.

3. Pré-validation

La difficulté pour la quantification de ce composé réside sur la nécessité d'avoir une extraction efficace et une méthode suffisamment robuste pour ne pas être interférée par la matrice sol.

La plupart des articles dans la littérature pour des matrices sédiment et sol font appel à la chromatographie gazeuse équipée d'un détecteur ECD et à la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse GC/MS pour l'analyse de la chlordécone et des composés organochlorés (Mosernan, 1977 ; Saleh, 1978). Ils se résument en général à des mises au point effectuées sur des solutions étalons (Cairns et al., 1982 ; Fariss et al., 1982; Moriwaki, 2004). L'extraction par fluide pressurisé (ASE®) est une technique utilisée pour la majorité des analyses de composés organochlorés (Concha-Grana, 2004).

Des tests préliminaires ont été menés pour mettre en place la méthode et cerner ses performances, avant de procéder à l'étape de validation.

3.1. MISE EN PLACE DE LA METHODE D'ANALYSE (GC/MS)

3.1.1. Interaction des solvants avec la chlordécone

La publication de Huckins et al. (1982) met en évidence des effets du solvant sur la chlordécone par :

- réaction du méthanol avec la chlordécone pour former un héli-acétal ($C_{12}H_6Cl_{10}O_2$) dans des conditions de reflux pendant 18h,
- réaction de l'acétone avec la chlordécone pour former un aldol ; moins de 1% se formerait à 5°C après 8 mois de contact,
- augmentation du signal de la chlordécone avec addition de méthanol dans une solution d'hexane,
- diminution du signal d'une solution de chlordécone dans l'acétate d'éthyle avec ajout de méthanol,
- aucune évolution du signal avec ajout de méthanol et isooctane à une solution de chlordécone dans l'acétate d'éthyle.

Ces effets ont été évalués au laboratoire. Trois solutions mères de chlordécone sont préparées à 100 mg/l dans 3 solvants de polarité différente : méthanol, isooctane et acétone. Trois gammes (50 à 250 µg/l) sont préparées à partir de ces solutions par dilution dans le cyclohexane.

Les points de gamme contiennent entre 0,05% (50µg/l) et 0,25% (250µg/l) du solvant utilisé pour la mise en solution initiale du standard à 100mg/l.

Les 3 gammes sont injectées et quantifiées par étalonnage externe (sans standard interne) (*Figure 4*).

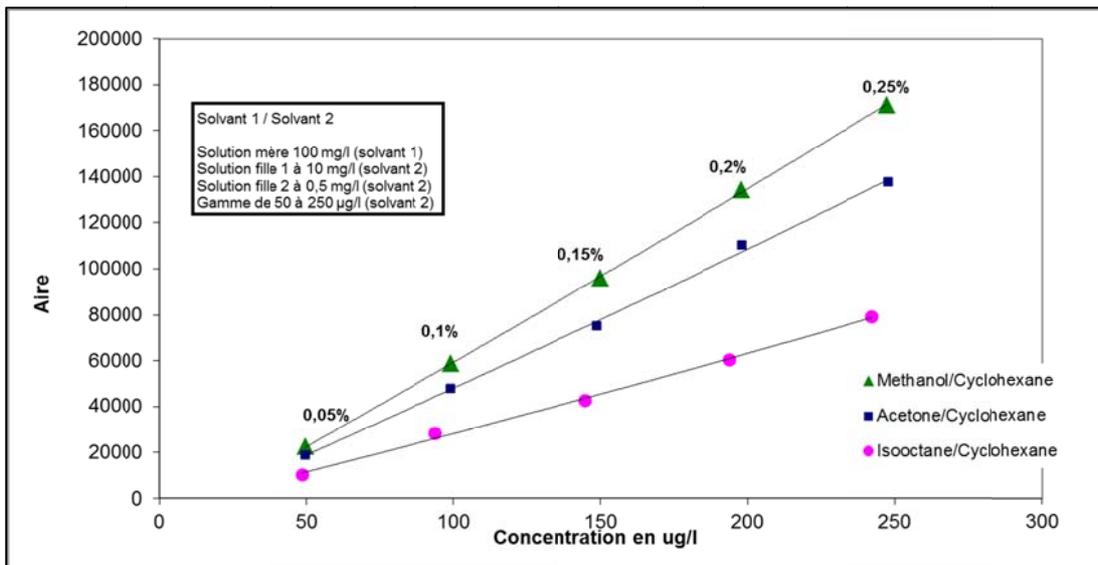


Figure 4: Droite d'étalonnage de la CLD obtenue pour les solvants 1 / solvant 2 utilisés pour la préparation des solutions mère et fille et de la gamme d'étalonnage; Pourcentages affichés : % solvant1 pour chaque niveau de concentration

Plus le solvant utilisé pour la préparation de la solution mère est polaire plus la réponse de la chlrodécone est exaltée, le méthanol donnant ainsi la meilleure réponse.

L'influence de la quantité de méthanol dans les étalons injectés (c'est-à-dire le volume de solution mère contenu dans les étalons après dilution avec le cyclohexane) a également été testée dans une autre expérience où l'étalon à 100µg/l (contenant 0.1% de méthanol) est enrichi à 0.3% et 0.5% de méthanol. L'aire de la chlrodécone est similaire pour ces 3 essais (aire moyenne = 62000 et un écart-type de 1100 avec n=3).

Par contre, avec un étalon à 100µg/l (dans l'isooctane) ne contenant initialement pas de méthanol, l'ajout de méthanol à 0,2 et 0,4% augmente le signal de la chlrodécone d'un facteur 2 (0% méthanol : aire= 22300 ; 0.2% méthanol : aire = 44000 ; 0.4% méthanol : aire = 40000).

Ces essais montrent l'influence de la composition en solvant final sur la réponse de la chlrodécone lors de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse et donc l'influence de la préparation des gammes étalons et l'importance du choix et de la nature du solvant de la solution mère.

Il est primordial que les solvants des échantillons et de la gamme étalon soient identiques pour avoir des résultats cohérents. Cela implique un choix judicieux pour les solvants d'extraction et d'analyse.

Les solvants utilisés pour l'extraction est un mélange hexane/acétone et le cyclohexane pour le solvant final de l'extrait injecté en GC/MS. Par conséquent, l'acétone est utilisée comme solvant pour la solution mère puis le cyclohexane pour la préparation des étalons de la gamme.

Une quantité de 0.05% à 0.25% d'acétone (utilisé pour préparer la solution mère) est présent dans les standards de la gamme d'étalonnage. L'acétone n'est pas présente dans les extraits de sols. Nous avons donc vérifié que le volume d'acétone n'a pas d'influence sur le signal de la chlordécone en ajoutant une quantité croissante d'acétone dans un étalon contenant uniquement du cyclohexane (*Tableau 3*).

% d'acétone ajouté dans le standard (200 µg/l) de CLD dans le cyclohexane	Aire CLD
0%	76358
0,05%	76260
0,1%	74778
0,15%	77318
0,2%	78585
0,25%	76761

Tableau 3 : Influence de l'ajout d'acétone sur la réponse de la CLD

L'ajout d'acétone jusqu'à 0.25% n'influence pas la réponse de la CLD.

3.1.2. Choix du traceur d'extraction

Un traceur d'extraction est ajouté à chaque échantillon de sol sec et broyé, prêt pour l'analyse, afin de vérifier le bon fonctionnement du procédé d'extraction jusqu'au moment de l'injection en GC.

Le mirex ($C_{10}Cl_{12}$), même s'il n'a pas de fonction cétone, est très proche de la chlordécone de par la configuration du composé (*Figure 5*) avec 12 chlores. Cependant ce produit est quantifié dans les sols (environ 0.05 mg/kg pour l'Andosol) et dans le standard de la chlordécone (environ 1%) et ne pourra donc pas être utilisé.

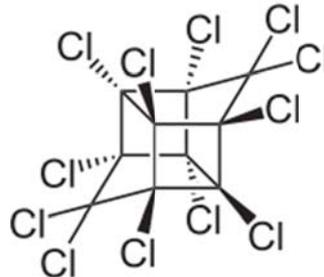


Figure 5: Formule du mirex

Le transnonachlore ($C_{10}H_5Cl_9$) (*Figure 6*) est choisi malgré l'absence de fonction cétone (tout comme le mirex) car il comporte un cycle et 9 atomes de chlore et n'est pas présent dans les sols étudiés.

Son temps de rétention (9.2 min) est proche de ceux de la chlordécone (9.9 min) et de la chlordécone-5bhydro (9.3min).

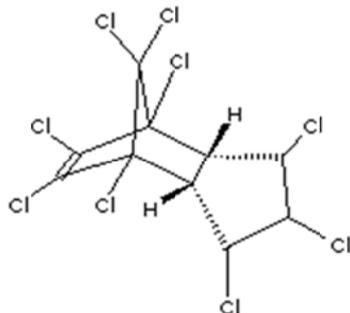


Figure 6 : Formule du transnonachlore

La chlordécone C¹³ (CLD13) n'est pas utilisée en traceur mais en standard interne pour prendre en compte le comportement de la chlordécone et de la chlordécone-5bhydro en chromatographie gazeuse (§3.1.3). Il aurait été possible d'utiliser la CLD13 comme traceur d'extraction mais nous préférons avoir 2 indicateurs différents, un pour l'extraction (le transnonachlore) et un pour l'analyse (CLD13) pour évaluer le déroulement de toute la méthode d'analyse.

Une solution de transnonachlore dans l'acétone sera ajoutée à chaque échantillon de sol avant l'extraction à l'ASE de manière à atteindre à 0.4 mg/kg.

Cette teneur, ramenée dans l'extrait, correspond à une concentration qui se trouve dans la gamme d'étalonnage (250 µg/l). Cette teneur correspond à environ 10 fois la limite de quantification instrumentale de 0.05 mg/kg (§ 3.1.6).

Le rendement de récupération du traceur est calculé en comparant la valeur obtenue dans l'extrait (au moyen de la droite d'étalonnage) par rapport à la valeur théorique.

Pour savoir si ce rendement est à prendre en compte pour calculer la valeur de la chlordécone, 22 sols et sables sont dopés de 0.25 à 10 mg/kg en CLD (*Figure 7*). Les taux de récupération du CLD sont calculées avec et sans prise en compte du rendement du traceur.

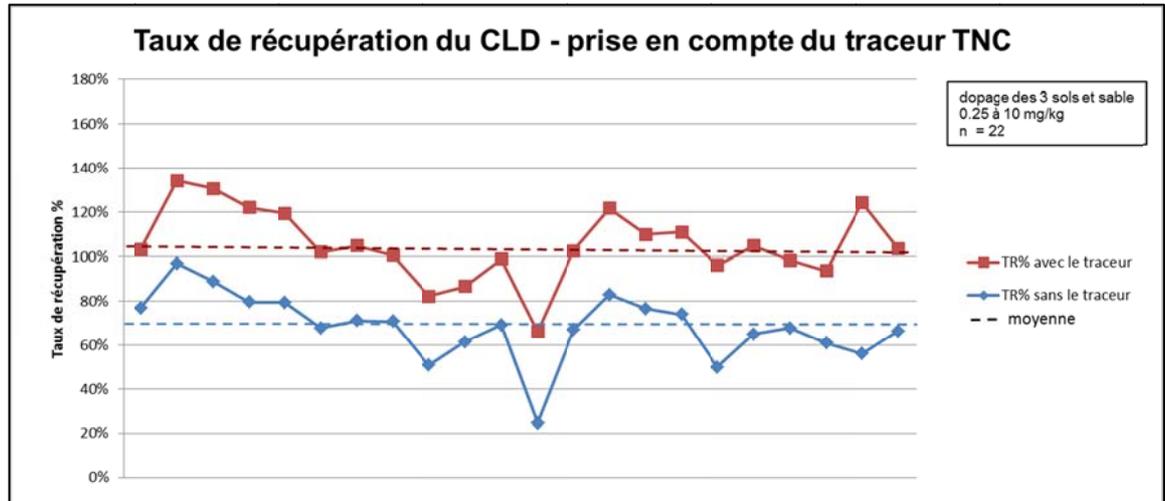


Figure 7 : Taux de récupération du CLD avec/sans prise en compte du traceur (TNC)

Les teneurs en CLD avec correction par le traceur sont voisines de la valeur de dopage avec un taux de récupération moyen de 106% ($\pm 16\%$) ; sans la prise en compte du traceur, le taux de récupération moyen est de 68% ($\pm 15\%$).

Le rendement du traceur est pris en compte dans le calcul de la teneur en CLD.

3.1.3. Comportement des composés en chromatographie gazeuse : ajouts dosés et agents protecteurs

La chlordécone et ses produits de dégradation déchlorés ont un comportement très spécifique dans le système de chromatographie gazeuse (injecteur et colonne). Ce comportement doit être identique pour le standard interne pour quantifier correctement ces composés.

En présence de matrices chargées telles que celles des extraits de sol, des composants de la matrice se fixent sur des sites de l'insert du port d'injection GC et sur la colonne chromatographique (silanol), augmentant les réponses des composés recherchés par rapport aux réponses des analytes en solution dans un solvant seul.

En effet, les analytes en absence de matrice vont se fixer eux-mêmes sur l'insert/colonne ; en présence de matrice, celle-ci joue le rôle de « protection » vis-à-vis des sites de fixation en prenant la place des composés d'intérêt.

Par conséquent, les teneurs retrouvées dans la matrice sont erronées si on les quantifie avec un standard interne non adapté qui ne se comporte pas comme la chlordécone. (§3.1.4 Figure 9).

Ce phénomène peut être supprimé par passivation du système et l'injection d'un extrait de sol chargé avant analyse de la série d'échantillons. Cependant ce phénomène

réapparaît au fur et à mesure des injections des étalons et il faut recommencer la passivation. Ce procédé n'est donc pas retenu.

La technique la plus connue pour limiter ces effets est l'utilisation des ajouts dosés consistant à ajouter avant analyse une solution connue des composés d'intérêt en quantité croissante dans plusieurs fractions de l'extrait (technique longue et contraignante). Depuis 2003 (1^{ère} publication sur le sujet Anastassiades et al ; 2003) une autre technique a été développée et consiste à ajouter des agents protectants dans l'extrait.

En ajoutant ces "agents protectants" (sucre) à la fois dans les solutions d'étalonnage et dans les extraits « matrice », on induit le même "effet matrice" dans les deux cas. On devient donc maître du phénomène et on ne dépend plus des constituants de la matrice.

La mise en place des agents protectants nécessite dans un premier temps de choisir l'agent protectant qui sera le plus efficace pour la chlordécone et son produit de dégradation dont on possède l'étalon analytique. Mastovska et al (2005) ont évalué l'efficacité de 8 agents de protection selon la région d'élution du composé ; ce composé sera donc ajouté pour une teneur de 1 g/l dans les extraits de sol et la gamme d'étalonnage.

Il faut cependant prendre soin de vérifier que la chlordécone ne réagit pas avec l'agent protectant pour former le kepol. Cet effet est mentionné par Soine (1983) et Huckins (1982) qui montrent la réaction de la chlordécone avec le solvant d'analyse dans l'injecteur GC.

Dans notre cas, l'alcool (D-sorbitol) n'est pas le solvant d'analyse mais l'agent protectant (4 fonctions –OH) ajouté dans l'extrait.

L'utilisation d'un agent protectant nécessite de changer le solvant d'analyse pour solubiliser ces composés très polaires (alcool) dans l'extrait final. Ce solvant d'analyse adapté à l'agent protectant est composé d'acétonitrile et d'une faible quantité d'eau (utilisée pour dissoudre l'agent protectant). Par contre, les solvants d'extraction (hexane et acétone) et des standards commercialisés (cyclohexane, acétone, iso-octane) ne sont pas compatibles (non miscibles) avec l'acétonitrile. Une évaporation sera donc nécessaire pour un transfert dans l'acétonitrile des extraits de sol et de la gamme d'étalonnage. La méthode d'injection est également à revoir puisque le volume d'expansion dans l'injecteur GC est plus important avec l'acétonitrile (et quelques 1.5 % d'eau) que le solvant utilisé classiquement. Il sera nécessaire d'optimiser ce volume d'expansion en modifiant les paramètres de l'injecteur (pression de pulse, temps de pulse et volume injecté). Le faible pourcentage d'eau (1.5%) dans les extraits/gamme d'étalonnage ne nécessite pas son élimination à l'injection (mode PTV split solvant) et n'entraînera pas de dégradation de la colonne.

Plusieurs paramètres peuvent mettre en évidence l'effet des agents protectants : le modèle de la régression de la courbe d'étalonnage (quadratique/linéaire), la trainée du pic chromatographique et les rapports des valeurs des pentes entre solvant et matrice

de sol (Mastovska et al., 2005 ; Poole, 2007 ; Gonzales, 2009 ; Kirchner, 2008 ; Paya, 2007 ; Wang, 2011).

Malgré un certain nombre de modification pour évaluer la méthode des agents protectants (méthode injection, solvant d'analyse), les tests ne sont pas concluants puisque l'on constate la formation du képol (ou chlordécol) par réaction des alcools avec la chlordécone (Figure 8). La formule brute du képol est $C_{10}Cl_{10}HOH$. La fonction cétone de la chlordécone est remplacée par une fonction alcool.

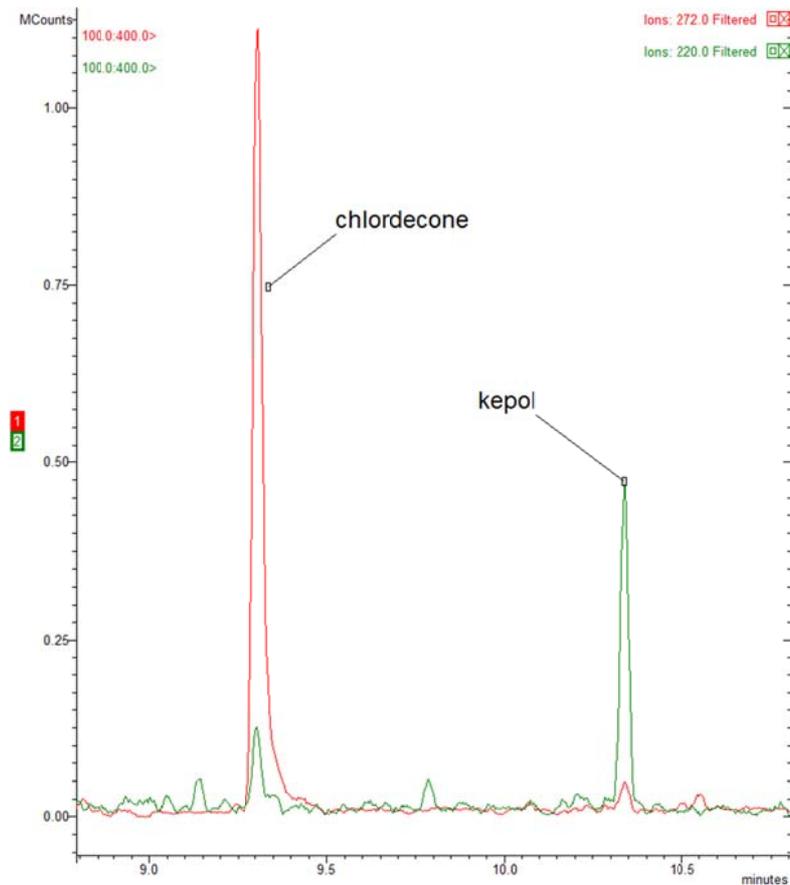


Figure 8 : Présence de képol (en vert à 10.3 min) après injection d'un extrait de sol contenant du CLD (1.4 mg/kg) (en rouge à 9.4 min) et ajout d'un agent protectant (D-sorbitol).

La méthode des agents protectants est donc abandonnée et des essais seront réalisés par la méthode des ajouts dosés.

3.1.4. Choix du standard interne

a) Choix du composé

Le standard interne a pour objectif de mimer la molécule d'intérêt pour « supprimer » les effets éventuels lors de l'analyse et de s'affranchir des variations liées à l'injection (température, volume injecté) et à des dérives de l'appareil.

Le composé 2,2',5,6'-Tetrachlorobiphenyl (CB53) est utilisé comme standard interne pour les composés chlorés (Application Note 709 Application book CHROMPACK p169). Il a comme formule $C_{12}H_6Cl_4$; il ne contient que 4 chlores et il ne possède pas de fonction cétone.

Devant le comportement de la chlordécone (§3.1.3), nous avons cherché un autre standard plus représentatif de la molécule d'intérêt. Le meilleur choix de standard interne consiste à employer la molécule d'intérêt marquée sur 1 ou plusieurs atomes afin de les différencier en spectrométrie de masse. La chlordécone C^{13} est commercialisée. Cet étalon a donc été testé en vue de servir de standard interne pour quantifier la chlordécone et la chlordécone-5bhydro.

Nous avons évalué le comportement de ces 2 standards par injection de 5 étalons, 5 extraits de sol Andosol, 5 extraits de sol Nitisol et 5 extraits de sol Ferralsol contenant 50 µg/l en CB53 et 200 µg/l en CLD13 (*Figure 9*).

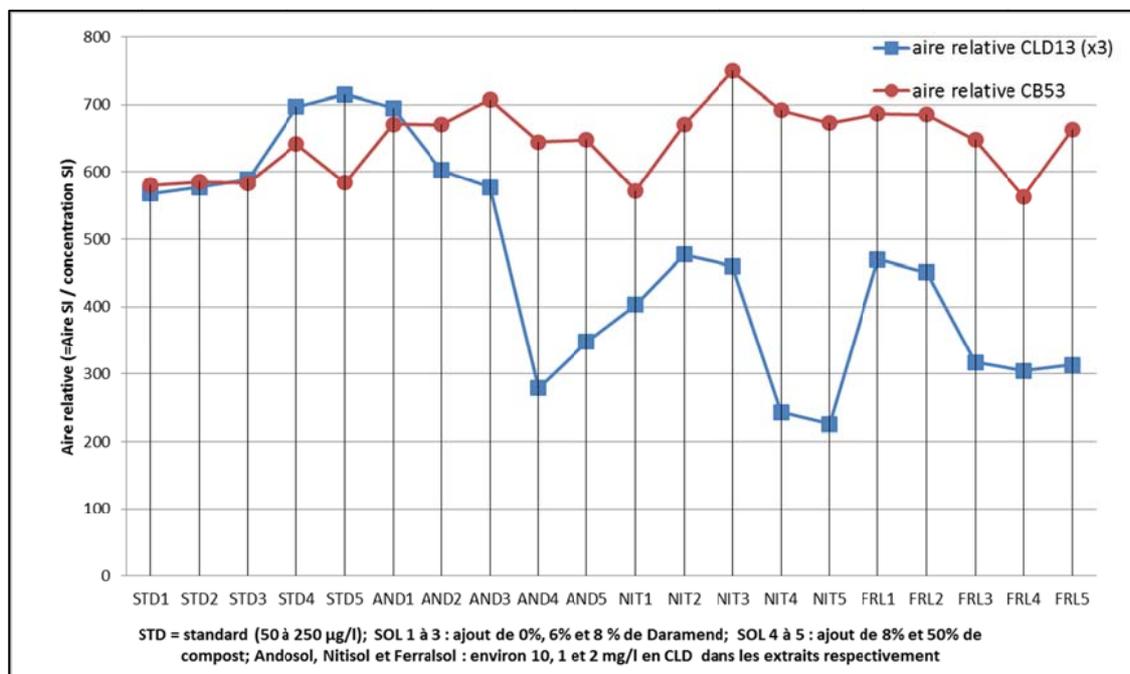


Figure 9 : Influence de la matrice sur l'aire des standards interne CB53 et CLD13.

Le CB53 est peu impacté par la matrice et ses aires relatives sont homogènes avec un coefficient de variation de 8%.

Le coefficient de variation de la CLD13 est de 34%. Dans les extraits de sols, son aire diminue jusqu'à 60% par rapport à la moyenne des 5 standards. Cette variation de signal signifie donc que la CLD13 (ainsi que le CLD) a un comportement différent dans le solvant et dans un extrait de matrice. Le CB53 n'a pas le même comportement que la CLD13 et n'est pas influencé par la présence de la matrice « extrait de sol ».

La CLD13 se révèle donc être le mieux placé par rapport au CB53 pour mimer la molécule d'intérêt et donc de supprimer les effets éventuels lors de l'analyse de la CLD.

L'étalon interne CB53 sera par contre utilisé en standard interne pour quantifier le traceur transnonachlore (utilisé pour quantifier les rendements d'extractions).

b) Choix des paramètres de détection du CLDC13 et CLD en spectrométrie de masse

Du fait de la détection par GC-MS en impact électronique (ionisation du composé avec des électrons), les spectres de masse des composés fournissent de nombreux fragments (ions produits). Le fragment le plus intense pour la chlordécone (ainsi que la chlordécone-5bhydro) et la chlordécone C¹³ correspond au fragment ¹²C₅Cl₆ et ¹³C₅Cl₆. Le tableau suivant (*Tableau 4*) exprime l'abondance de chaque composé en fonction des m/z :

m/z ¹² C ₅ Cl ₆ Chlordécone	Correspondance : m/z ¹³ C ₅ Cl ₆ =m/z ¹² C ₅ Cl ₆ + 5 Chlordécone C ¹³	Abondance%
270 [M] ⁺	275 [M] ⁺	52.0
271	276	2.90
272	277	100.0
273	278	5.56
274	279	80.0
275	280	4.44
276	281	34.2
277	282	1.90
278	283	8.21
279	284	0.455
280		1.06
281		0.058
282		0.057
283		0.003

Tableau 4 : m/z spécifique de la CLD et CLD13 pour le fragment C₅Cl₆ obtenu en impact électronique

La CLD et CLD13 présentent des ions de mêmes masses (m/z de 275 à 283).

Le choix des masses m/z pour quantifier la CLD13 est à définir puisque certaines masses peuvent interférer avec les masses spécifiques de la CLD qui coélue avec son composé marqué.

Les masses les plus importantes/intenses du CLD13 qui interfèrent très peu avec celles de la chlordécone (inférieures à 1%) sont m/z 279 et 281.

Les ions fils majoritaires obtenus par fragmentation des ions précurseurs m/z 279 et 281 sont les m/z 244 et 246 respectivement. Les 2 transitions SRM (selected reaction monitoring) sont donc : 279>244 et 281>246 pour la CLD13.

Lors de la recherche de la CLD13, la masse 279 issue de la chlordécone non marqué interfèrera pour 0.455% du signal chlordécone en CLD13. La masse 281 interfère pour 0.058% du signal chlordécone en CLD13.

Pour la teneur la plus haute en chlordécone dans la gamme d'étalonnage, 250 µg/l, le signal en CLD13 sera surestimé de :

$250 \times 0.455\% = 1.1 \mu\text{g/l}$ pour la masse 279 soit une surestimation de 0.57% en CLD13

$250 \times 0.058\% = 0.1 \mu\text{g/l}$ pour la masse 281 soit une surestimation de 0.07% en CLD13

Ces valeurs sont négligeables par rapport à la teneur en CLD13 (400µg/l).

Pour une teneur plus élevée que 250 µg/l en chlordécone (pour quantifier la chlordécone-5bhydro, l'extrait est injecté sans dilution préalable, la teneur la plus élevée en CLD est à 10mg/l dans le sol AND), la chlordécone interfère la chlordécone C¹³ :

$10\ 000 \times 0.455\% = 45.5 \mu\text{g/l}$ pour la masse 279 soit une surestimation de 22.8% en CLD13

$10\ 000 \times 0.058\% = 5.8 \mu\text{g/l}$ pour la masse 281 soit une surestimation de 2.3% en CLD13.

La transition 279>244 ne pourra donc pas être utilisée pour quantifier la CLD dans le sol AND.

L'aire de la CLD13 avec la transition 281>246 sera légèrement surestimée mais reste négligeable

Les transitions SRM de quantification et de confirmation pour la CLD13 sont 281>246 et 279>244, respectivement.

La CLD13 a été testée dans le cas où l'on souhaite quantifier la chlordécone-5bhydro dans les extraits de sol NIT/FRL/AND c'est-à-dire sans dilution de l'extrait. Dans ce cas, la chlordécone est à une teneur approximative de 1, 2 et 10 mg/l dans l'extrait. Le standard interne est ajouté à 400µg/l.

- la chlordécone seule :

Pour une concentration en chlordécone inférieure ou égale à 10 mg/l, la CLD13 n'est pas détectée (transition 281>246).

Seul la CLD est détectée (transition 272>237) et permet de confirmer qu'il n'y a pas d'interférence entre la CLD et la CLD13.

- la CLD13 seule :

Un standard contenant uniquement de la CLD13 (400 µg/l) est injecté.

Seule la CLD13 est détectée et permet de confirmer qu'il n'y a pas d'interférence entre la CLD13 et la CLD.

- en mélange : chlordécone et CLD13 :

6 standards contenant de 0 à 10 mg/l en CLD et une concentration fixe de 0.4 mg/l en CLD13 sont analysés (*Tableau 5*).

Concentration chlordécone (mg/l)	Concentration CLD13 (mg/l)	Aire chlordécone retrouvée	Aire CLD13 retrouvée	Aire due à l'interférence du CLD m/z 281 (0.058%)
0	0,4	0	19000	0
0,1	0,4	25 666	19660	15
0,2	0,4	56 230	19600	33
1,0	0,4	436 480	26344	250
5,0	0,4	3 287 000	40747	1901
10,0	0,4	7 937 000	44020	4600

Tableau 5 : Aire de la CLD13 retrouvée en fonction de la CLD ajoutée (0 à 10 mg/l)

Contrairement aux conclusions des 2 tests préalables (CLD13 non détecté pour des teneurs élevées en chlordécone jusqu'à 10 mg/l, aire constante en CLD13 pour un extrait de CLD13 seul à 0.4 mg/l), l'aire du CLD13 augmente pour une teneur élevée en chlordécone > 1 mg/l (*Figure 10*).

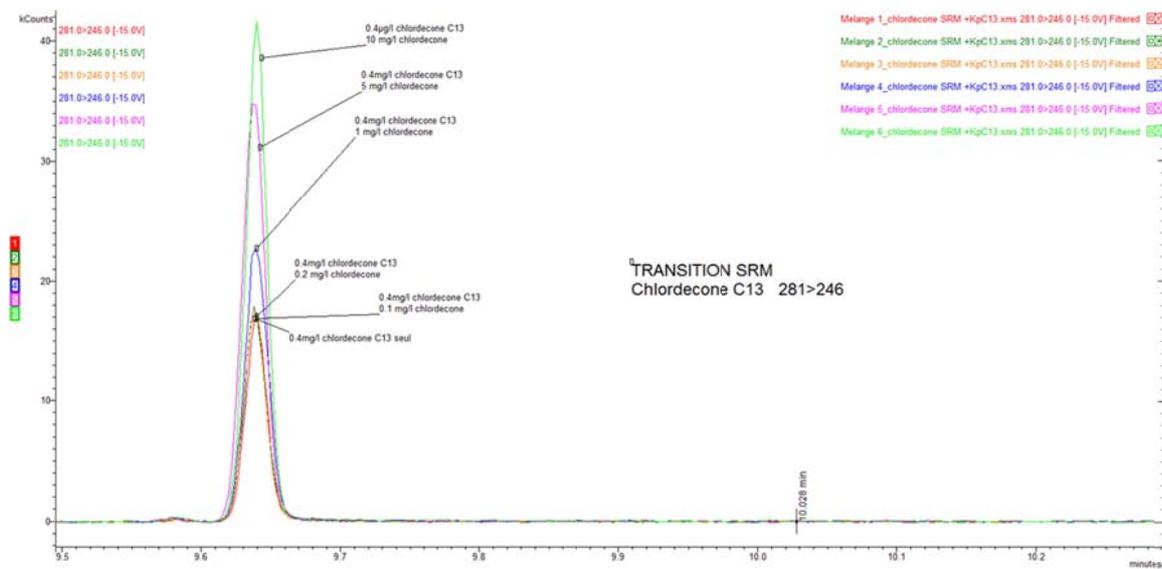


Figure 10 : Evolution de l'intensité du pic de la chlordécone C13 en fonction de l'ajout de la chlordécone (0 à 10mg/l) pour une même teneur en chlordécone C13 (0.4mg/l).

Cette augmentation de signal du CLD13 en présence d'une teneur élevée en chlordécone (>1 mg/l) est expliquée par le fait que la chlordécone à partir de cette teneur joue le rôle « d'agent protectant ».

La chlordécone se fixe sur des sites de l'insert du port d'injection GC et sur la colonne chromatographique (silanol) et par là même augmente la réponse du CLD13 comparés à sa réponse en solution seul.

Ce phénomène permet seulement de mettre en évidence le comportement de la chlordécone dans le système de chromatographie gazeuse et l'importance du choix du standard interne.

Cet effet n'interfère pas pour la quantification de la chlordécone et chlordécone-5b-hydro puisque ces 2 composés seront quantifiés dans une gamme de 0 à 250 µg/l soit des teneurs où le phénomène d'augmentation du signal en CLD13 n'est pas observé.

3.1.5. Nécessité des ajouts dosés

Afin d'évaluer si les effets de matrice sont bien pris en compte avec l'emploi de la CLD13, les teneurs en CLD obtenues par une quantification de l'extrait par étalonnage dans le solvant (étalonnage « externe ») ont été comparées avec celles obtenues par la méthode des ajouts dosés (3 niveaux de concentration ajoutés dans l'extrait).

Cet essai a été conduit avec les échantillons dont la matrice est la plus chargée, à savoir les sols Nitisol, Ferralsol et Andosol auxquels ont été ajoutés 6 et 12% de Daramend®, simulant 3 et 6 cycles de traitement ; le procédé Biogénie a été simulé par l'ajout de 8% et 50% de compost. Tous les sols ont été extraits dans les 48h après l'ajout des amendements.

Le temps de contact des ajouts de traitement (48h) au sol n'est pas suffisant pour initier la dégradation.

Pour l'étalonnage avec la CLD13, on quantifie la chlordécone dans les 5 extraits de chacun des sols (2 valeurs de Daramend®, 2 valeurs de compost, et le sol initial sans ajout) et on calcule la moyenne et écart-type des 5 résultats.

Pour les ajouts dosés, chacun des 5 extraits est fractionné en quatre : la première fraction n'a aucun ajout, alors qu'on ajoute dans les 3 dernières fractions une quantité croissante de chlordécone. Le composé est quantifié en prenant en compte la valeur de la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite formée par ces 4 points. La moyenne et l'écart-type des 5 résultats pour chacun des sols sont ensuite calculés.

Les moyennes des 5 teneurs retrouvées dans les sols pour chaque méthode de quantification sont illustrées à la **Figure 11**.

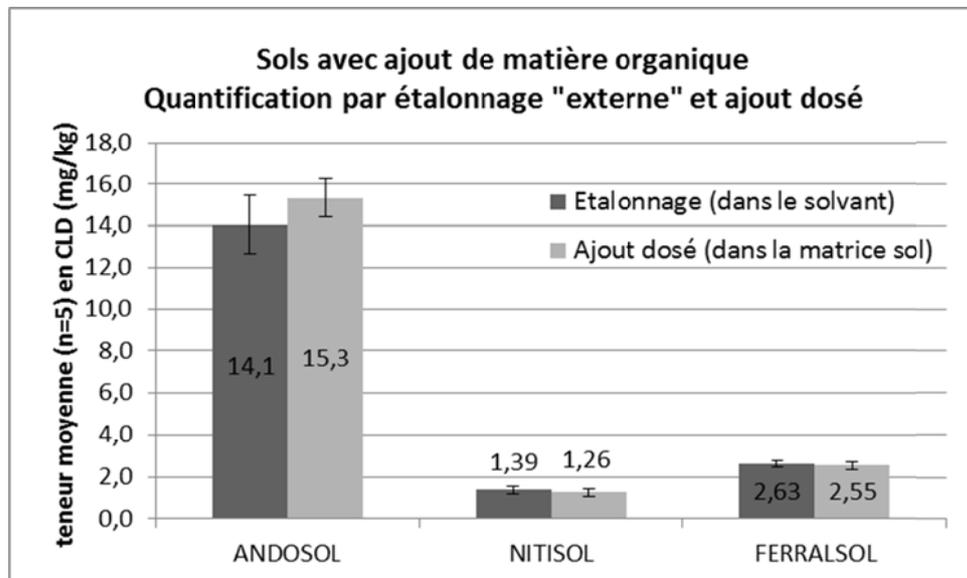


Figure 11 : Teneur moyenne retrouvée (n=5) par quantification sur base de l'étalon interne CLD13 et par méthode des ajouts dosés dans les 3 sols avec ajout de matière organique (barre d'erreur = écart-type associé des 5 valeurs)

Les résultats obtenus sur les 3 types de sols (Figure 11) montrent que l'emploi de la CLD13 suffit pour corriger les effets de matrice. Le recours aux ajouts dosés dans l'extrait n'est donc pas nécessaire pour les analyses de la chlordécone.

La même démarche a été effectuée pour la chlordécone-5bhydro dans le seul sol contenant ce composé : l'andosol. Cet essai est conduit sur 2 sols Andosols dont les teneurs en CLD-5bhydro et ajout de traitement Daramend® (0% pour le sol 1 et 12% pour le sol 2) sont différents. Les essais sont réalisés en triplicat (Figure 12).

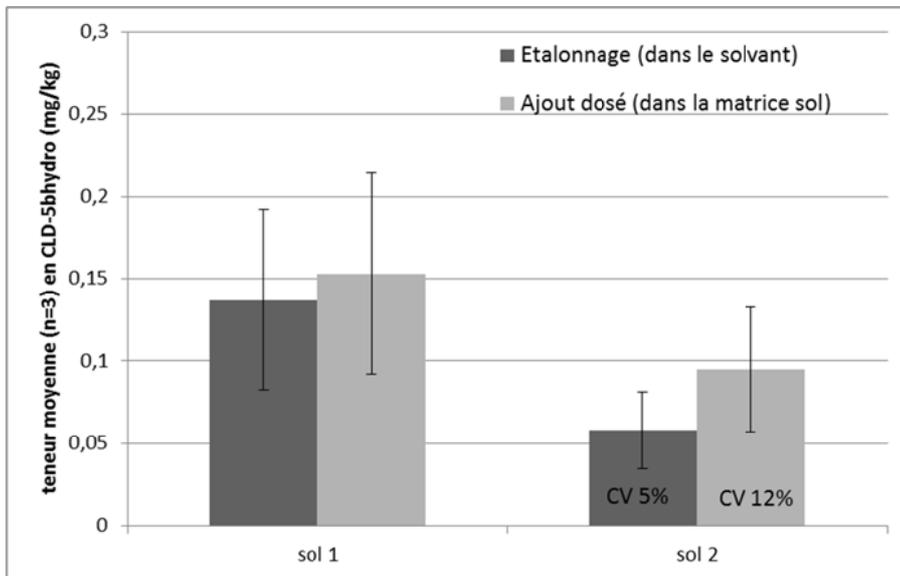


Figure 12 : Moyenne des teneurs retrouvées (n=3) par étalonnage et ajout dosé en CLD-5bhydro dans un sol Andosol sans ajout de traitement (sol 1) et un autre sol Andosol avec ajout de 12% du traitement Daramend® (sol 2) avec prise en compte de l'incertitude à 40% pour ce niveau de concentration.

Le critère de comparaison des 2 méthodes est différent de celui de la CLD puisque les teneurs pour la chlordécone-5bhydro sont plus faibles et donc l'incertitude est plus élevée. Par conséquent, une incertitude de 40% (cf. §5.6) est prise en compte sur les valeurs retrouvées.

Les résultats obtenus par les 2 méthodes de quantification ne sont pas significativement différents pour les 2 sols avec la prise en compte de 40% en incertitude de mesure pour ce niveau de concentration. Les coefficients de variation obtenus par analyse en triplicat des sols sont tous inférieurs à 15%.

Le recours aux ajouts dosés dans l'extrait n'est donc pas nécessaire pour la quantification de la chlordécone et CLD-5bhydro.

3.1.6. Estimation de la limite de quantification instrumentale de la chlordécone dans le solvant

Une gamme d'étalonnage de 15 µg/l à 200 µg/l est préparée dans le cyclohexane.

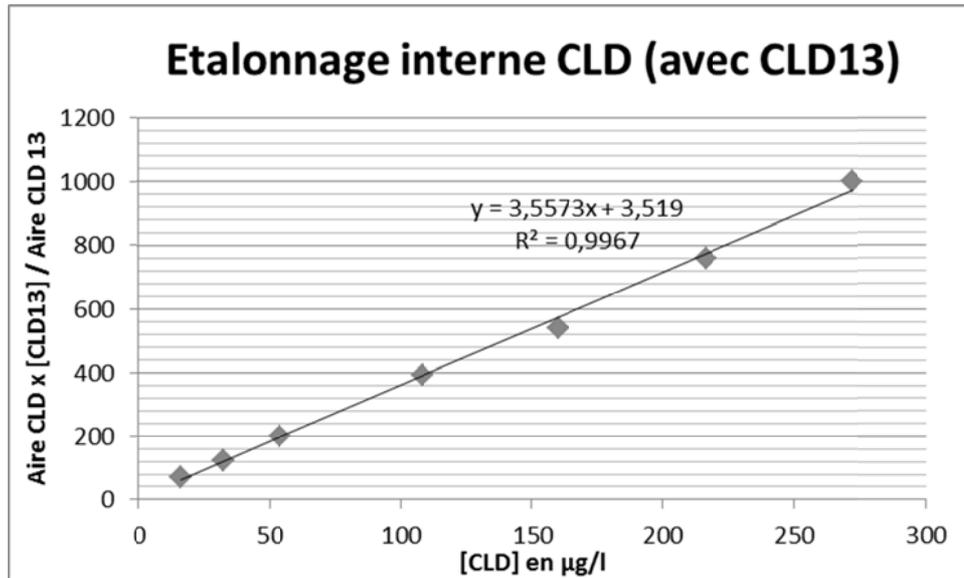


Figure 13 : Etalonnage interne de la CLD avec le standard interne CLD13

Le modèle de la gamme d'étalonnage (Figure 13) est choisi comme linéaire (pondéré en $1/x$) pour le domaine de 15 à 250 µg/l.

La valeur de 15 µg/l est une teneur suffisamment faible pour quantifier les teneurs susceptibles d'être présent dans les sols étudiés. C'est pourquoi, une teneur plus faible n'est pas prise en compte.

Le 1^{er} point de gamme (15.7 µg/l) est ensuite injecté 10 fois en répétabilité (Tableau 6).

Numéro de l'injection	Concentration préparée (µg/l)	Concentration retrouvée (µg/l)	Biais%
inj1	15,7	17,2	9%
inj2	15,7	16,5	5%
inj3	15,7	15,0	-4%
inj4	15,7	15,0	-5%
inj5	15,7	14,9	-5%
inj6	15,7	14,6	-7%
inj7	15,7	14,2	-9%
inj8	15,7	14,4	-8%
inj9	15,7	14,0	-10%
inj10	15,7	14,1	-10%

Tableau 6 : Teneur retrouvée et biais% observé pour 10 injections successives d'un standard à 15.7 µg/l en CLD

Les biais pour la chlordécone entre la concentration préparée et retrouvée sont tous \leq à 10%. Le coefficient de variation des 10 injections du standard à 15 µg/l est de 7%.

La limite de quantification dans le sol ramenée à l'extrait doit être supérieure au point bas de la gamme d'étalonnage. La valeur choisie est de 25 µg/l dans l'extrait.

Compte tenu des prises d'essai, cette teneur de 25 µg/l correspond à 0.05 mg/kg dans le sol.

La limite de quantification instrumentale de la chlordécone est donc estimée à 0.05 mg/kg. Ce type de détermination ne tient toutefois pas compte des problèmes de rendement d'extraction, d'interférences matricielles et autres artéfacts.

3.1.7. Stabilité du système d'injection

Pour s'assurer de la répétabilité de la mesure obtenue par GC/MSMS, un extrait de sol (Ferralsol) est injecté 10 fois de suite juste après une gamme d'étalonnage.

La moyenne obtenue pour la quantification de la chlordécone avec le standard interne chlordécone C¹³ est de 2,68 ± 0,06 mg/kg, ce qui conduit à un coefficient de variation de 2% qui confirme la stabilité du système pour des extraits de sol.

3.2. ESSAIS D'EXTRACTION

3.2.1. Efficacité de l'extraction dans une matrice « simple/propre »

Un sable de fontainebleau est dopé en chlordécone à 3 niveaux de concentration : 0.1, 1 et 10 mg/kg en triplicat pour s'assurer que la récupération en chlordécone dans une matrice « propre » est satisfaisante. Les niveaux de dopage choisis correspondent à la gamme susceptible d'être rencontrée dans les trois types de sol.

Matrice	Dopage (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)	Taux de récupération %
Niveau 1	0,080	0,087	110%
	0,069	0,076	111%
	0,069	0,093	134%
Niveau 2	0,85	0,82	96%
	0,84	0,89	106%
	0,81	0,80	99%
Niveau 3	8,7	8,1	94%
	7,8	9,6	123%
	8,2	8,5	104%

Tableau 7 : Taux de récupération de la CLD dans le sable de fontainebleau après dopage à 0.1, 1 et 10 mg/kg.

Les taux de récupération de la CLD (*Tableau 7*) sont compris entre 94% et 123% pour les dopages à 1 et 10 mg/kg. Les valeurs sont comprises entre 110 et 134% pour les dopages de 0.1 mg/kg (2 fois la limite de quantification instrumentale).

L'efficacité de l'extraction dans une matrice « simple/proprie » est satisfaisante.

3.2.2. Extraction jusqu'à épuisement des sols de l'étude

Pour s'assurer que le solvant est capable d'extraire en une fois l'ensemble des composés d'intérêt sans être saturé, 5g de chacun des 3 sols est extrait 3 fois de suite. Chaque extrait est analysé.

La chlordécone est présente dans la première extraction uniquement. Ces échantillons contiennent 1.2, 2.6 et 12.0 mg/kg pour les sols Nitisol, Ferralsol et Andosol.

Ce test permet de mettre en évidence qu'une seule extraction est suffisante.

3.2.3. Cas des sols Andosols : fermeture de la microporosité des sols Andosols

Le sol Andosol est particulier car il contient des allophanes. La fermeture de la nanoporosité de ces sols par séchage serait susceptible de rendre plus difficile l'extraction de la chlordécone. Bien que le séchage utilisé dans notre étude s'effectue à seulement à 40°C alors que l'influence du séchage sur la nanoporosité ne se marque qu'à des températures supérieures à 100°C (*T. Woignier, communication personnelle à C. Mouvet, avril 2011*), l'effet du séchage à 40° C a été testé. Le taux d'humidité initial du sol brut est de 60%.

Un échantillon d'Andosol brut est fractionné en 2 pour une extraction après séchage/broyage et une extraction sur le brut. Les données granulométriques montrent une teneur totale en argile de $23,6 \pm 0,5$ % (n = 3) ; la teneur en allophane n'a pas pu être déterminée car elle nécessite des outils et méthodologies qui n'ont pu être mobilisés dans la présente étude.

Les extraits récupérés de l'ASE présentent 2 phases dans le cas de l'extraction du sol brut humide. Une première avec de l'hexane et acétone, et la deuxième avec de l'eau et acétone. La phase semi-aqueuse (20 ml) est évaporée sous flux d'azote jusqu'à élimination complète de l'acétone et est extraite par extraction liquide-liquide avec ajout de 2 fois 10ml d'hexane. Les phases organiques sont ensuite rassemblées avant analyse (*Tableau 8*).

Andosol	Teneur en chlordécone (mg/kg)
BRUT 1	14,4
BRUT 2	14,8
BRUT 3	14,4
SEC 1	12,6
SEC 2	12,7
SEC 3	12,2

Tableau 8 : Teneur en chlordécone dans l'andosol humide et après séchage.

Compte tenu de l'incertitude (k=2) de 30% de la chlordécone (cf. §5.6), les valeurs ne sont pas significativement différentes (Tableau 9) :

Andosol	Teneur moyenne en chlordécone (n=3)	incertitude associée (k=2)
BRUT	14,5	± 4,3
SEC	12,5	± 3,7

Tableau 9 : Teneur moyenne en chlordécone dans les sols bruts et après séchage et l'incertitude associée.

Les extractions seront donc réalisées sur le sol séché à 40°C pour l'Andosol et les 2 autres sols.

4. Méthode d'analyse retenue

Pour chaque échantillon à analyser, une quantité de l'ordre de 200 g est prélevée après homogénéisation à l'aide d'une cuillère dans le conditionnement d'origine. Le sol prélevé est séché dans les 24h pour limiter toute dégradation de la chlordécone et des autres composés de dégradation éventuellement présents. Ce séchage est réalisé à 38 °C durant 72 heures. Ce prélèvement est enfin réduit à une granulométrie inférieure à 80 µm, d'abord par concassage (si présence d'éléments et mottes centimétriques) puis broyage dans un bol en agate, constituant ainsi un matériau fin et homogène.

Cette fraction, séchée à 38 °C et broyée, constitue l'échantillon sur lequel seront prélevées les prises d'essai pour réaliser l'extraction d'une part et pour déterminer la proportion de matière sèche d'autre part (séchage à 105 °C).

Les standards utilisés sont commercialisés par Cil cluzeau : chlordécone hydrate sous forme solide (réf. : C11220000) et la chlordécone-5bhydro (réf. : LA11220200CY) dans le cyclohexane à une concentration de 10 mg/l. Pour vérifier la justesse de la solution préparée en chlordécone, un point de contrôle est réalisée avec un standard chlordécone d'un fournisseur différent ; ce standard est commercialisé par Sigma-Aldrich (réf : 49046). L'ensemble de ces standards ont une pureté > à 98%.

Le standard interne CB53 est commercialisé par Sigma-Aldrich (réf : C 20005300). Le deuxième standard interne est la chlordécone 13C10 (réf : CLM-4814-S) à 100 mg/l dans le nonane, commercialisé par LGC Standards. Le traceur transnonachlore est disponible chez Sigma-Aldrich (réf 442811).

Les standards commercialisés sous forme solide sont préparés à 200mg/l dans l'acétone.

L'extraction est réalisée avec un système extraction par fluide pressurisé (PFE) : ASE®. Ce système permet l'extraction par solvant (mélange acétone/hexane 50/50 v/v) des composés à partir de 5 g de sols à 100 °C sous pression élevée (110 bars). Cette pression est appliquée à la cellule d'extraction pour maintenir le solvant à l'état liquide durant l'extraction.

L'extrait est ensuite évaporé jusqu'à 10 ml, puis fractionné au 1/10 et transféré dans 1 ml de cyclohexane par évaporation sous flux d'azote du solvant.

L'analyse GC/MSMS est réalisée avec un système Bruker qui se compose d'un appareil de chromatographie gazeuse GC450 équipé avec un injecteur 1177, un

passeur d'échantillon Combi Pal (CTC) et un spectromètre de masse triple quadripôle 300MS.

L'injecteur est équipé avec un liner 4x6.3x78.5 mm avec laine de verre et désactivation Sky™ (Restek réf : 23309.5). 1 µl de l'extrait est injecté à 100 µl/sec. La température de l'injecteur est de 280°C en isotherme. L'injecteur opère en mode splitless à 1 ml/min en débit constant pendant 1 minute.

La seringue est rincée avant (3 fois 5 µl de cyclohexane) et après l'injection de l'extrait et des étalons (5 fois 5 µl d'acétone et 2 fois 5 µl de cyclohexane).

Les composés sont séparés sur une colonne 30 m, 0.25 mm de diamètre interne et contenant une phase de 0.25 µm de 100% diméthylpolysiloxane (Rxi-1MS, réf 13323, Restek). La colonne est chauffée à 50 °C pendant 1.1 minute puis jusqu'à 250 °C avec un gradient de 30 °C/min et enfin à 310 °C à 10 °C/min et en isotherme pendant 1.5 min.

La ligne de transfert est à 310 °C. La source d'ionisation en impact électronique est à 250°C. Les temps de rétention et paramètres de détection sont les suivants (*Tableau 10*) :

Composé	Temps de rétention (min)	Transition SRM de quantification (collision V, dwell time s)	Transition SRM de confirmation (collision V, dwell time s, abundance %)
chlordécone	9.9	272>237 (15, 0.02)	270>235 (15, 0.01, 60%) 272>235 (15, 0.01, 20%)
chlordécone-5bhydro	9.3	272>237 (15, 0.02)	270>235 (15, 0.01, 60%) 272>235 (15, 0.01, 20%)
chlordécone C13	9.9	281>246 (15, 0.02)	279>244 (15, 0.02 ; 330%)
transnonachlore	9.2	409>300 (25, 0.02)	407>298 (25, 0.01, 64%) 411>302 (25, 0.01, 62%)
CB53	8.0	292>222 (25, 0.02)	292>257 (10, 0.01, 110%)

Tableau 10 : Paramètres de détection en GC/MSMS (impact électronique) des étalons utilisés pour l'étude.

La pression du gaz de collision (Argon en CID) est de 1.5 mTorr. Les résolutions de Q1 et Q3 sont fixées à 1.5 et 1.2 respectivement. L'ionisation est en impact électronique positif.

Le chromatogramme de tous les étalons en mode SRM est illustré en *Figure 14*.

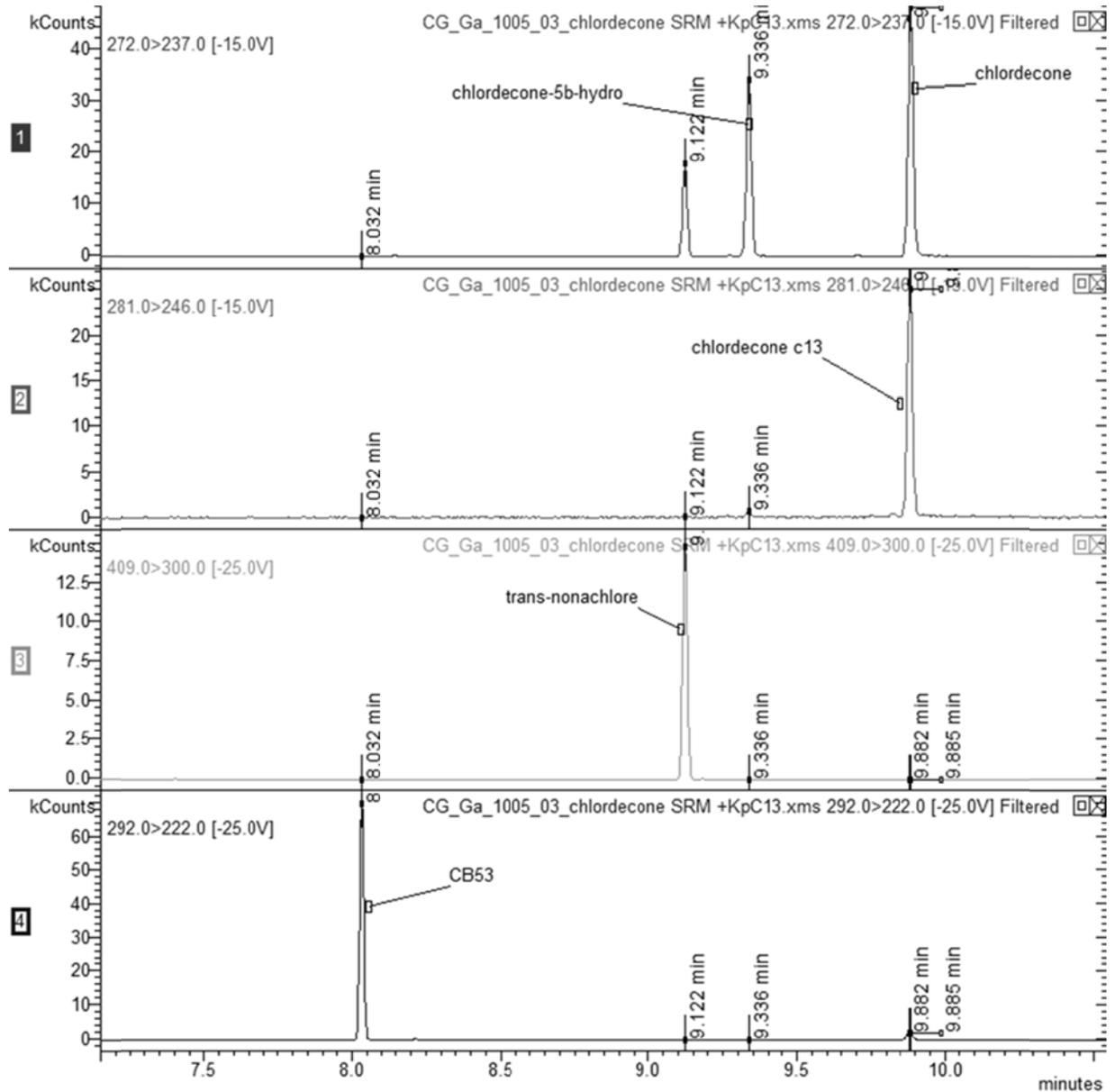


Figure 14 : Chromatogrammes GC/MS de la chlordécone, chlordécone-5bhydro, transnonachlore et CB53 à 50 µg/l et de la CLD13 à 200 µg/l dans le cyclohexane.

Les concentrations dans les extraits de sol sont calculées par rapport à un étalonnage interne établi pour chaque composé et son standard interne. Le standard interne CLD13 est utilisé pour la chlordécone et la chlordécone-5bhydro. Le standard interne CB53 est utilisé pour le transnonachlore.

5. Validation

La validation de la méthode est réalisée sur la chlordécone en utilisant les principes de la norme NF T 90-210 mai 2009 : « Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire ».

5.1. ETUDE DE LA FONCTION D'ETALONNAGE

Sept niveaux de concentrations (15, 30, 50, 100, 150, 200 et 250 µg/l) pour la chlordécone, chlordécone-5bhydro et transnonachlore sont injectés en cinq répétitions. Chaque répétition est préparée à partir de solutions indépendantes.

Le plan d'expériences de type A (norme NF T 90-210) est appliqué et permet d'évaluer la fonction d'étalonnage dans un domaine d'étalonnage par un test d'adéquation comparaison des biais observés à un écart maximal autorisé (EMA).

Il s'agit de vérifier que tous les biais observés (écart entre concentration retrouvée et préparée) sur chaque étalon analysé sont acceptables à partir d'un EMA pour chaque composé.

Les étalonnages, retraités par le logiciel, sont des régressions linéaires pondérées en $1/x$.

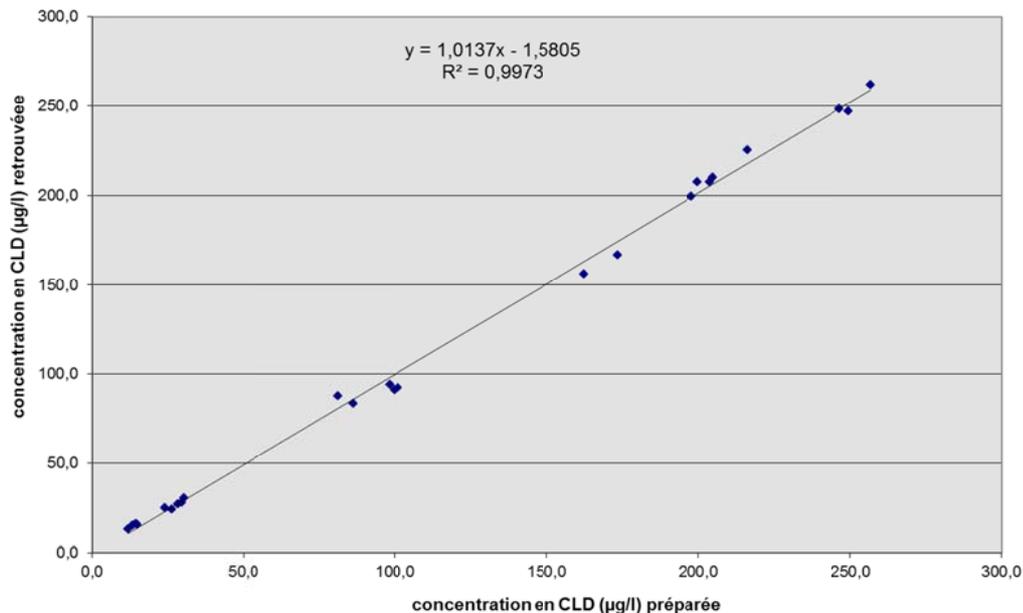


Figure 15 : Concentration en CLD préparée en fonction de la teneur retrouvée par la droite d'étalonnage

Les biais observés sont illustrés aux *Figure 16*, *Figure 17* et *Figure 18* selon les composés en fonction du niveau de concentration :

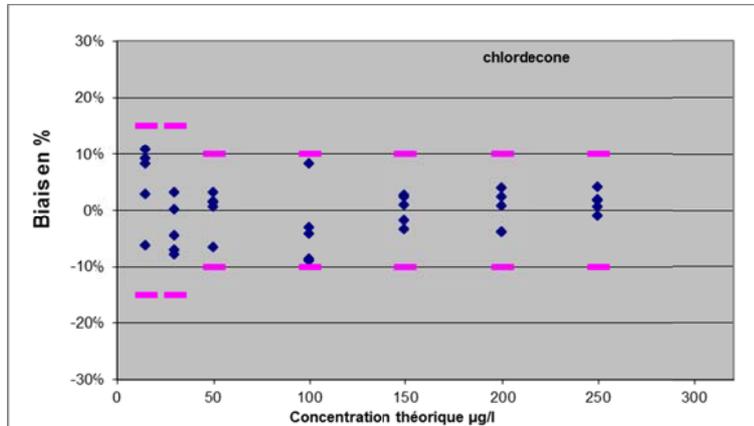


Figure 16: Biais observés (en %) pour l'étude de l'étalonnage de la chlordécone

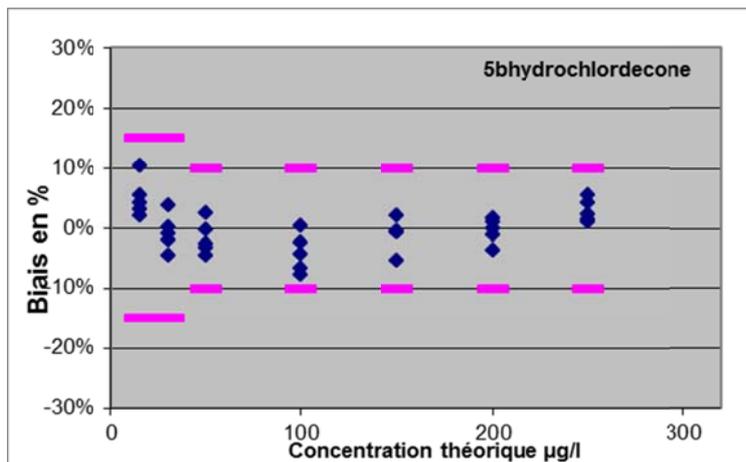


Figure 17 : Biais observés (en %) pour l'étude de l'étalonnage de la chlordécone-5hydro

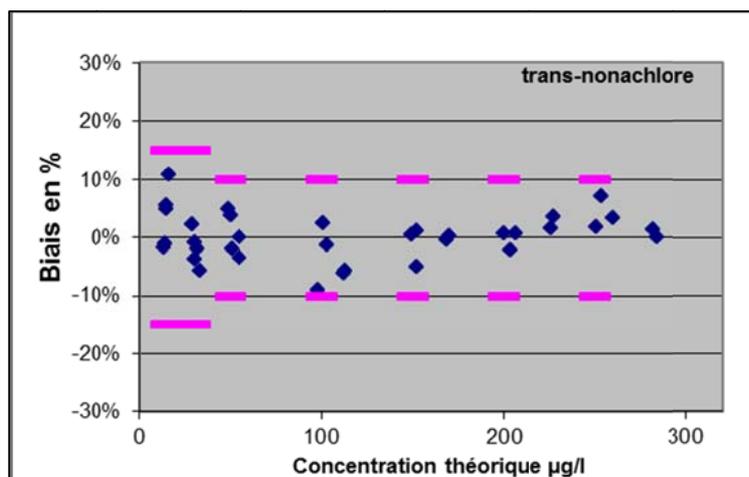


Figure 18 : Biais observés (en %) pour l'étude de l'étalonnage du transnonachlore.

Le biais maximal observé pour les étalonnages est de 11% pour tous les composés et les niveaux de concentration. Cette valeur est correcte par rapport à d'autres validations de l'étude de l'étalonnage réalisées dans le laboratoire.

Les valeurs d'EMA étant identique pour les 3 composés, une seule valeur d'EMA sur les points d'étalonnage pour le contrôle de l'étalonnage en routine est prise en compte (**Tableau 11**).

Etalonnage	15 à 30 µg/l	>30 µg/l
Ecart maximal retenu	15%	10%

Tableau 11 : EMA autorisés sur les points d'étalonnage

Les points de gamme en dehors de ces critères seront rejetés.

5.2. ETUDE DE L'EFFICACITE DE L'EXTRACTION

L'efficacité de l'extraction est évaluée par dopage d'échantillons non contaminés, prélevés en Martinique spécialement pour cette occasion avec l'appui logistique et scientifique de l'IRD et du CIRAD du PRAM (tous nos remerciements à L. Rangeon, T. Woignier et H. Macarie). L'analyse de ces échantillons a montré des teneurs en chlordécone inférieures à 0,05 mg/kg pour le Nitisol et l'Andosol, mais une teneur non négligeable, 0,23 mg/kg, pour le Ferralsol.

Le dopage est réalisé par ajout d'une solution à 2.5 et 50 mg/l de la chlordécone (dans l'acétone) dans 5g de sol (préalablement séché à 38°C) contenu dans la cellule d'extraction PFE. Le volume ajouté est dépendant de la valeur de dopage du sol (0.1 à 1ml).

Les niveaux de dopage correspondent aux ordres de grandeur des teneurs retrouvées dans les sols du projet : 0.1 à 1 mg/kg pour les sols NIT et FRL, et 10 mg/kg pour le sol AND.

Pour comparer l'efficacité de l'extraction sur ces 3 sols, des niveaux de dopage doivent être identiques. Les niveaux 10 mg/kg pour les sols NIT et FRL et 1mg/kg pour le sol AND sont ajoutés dans ce but.

Pour le Nitisol et le Ferralsol, les dopages sont réalisés sur 5 niveaux de concentration de 0.1 à 10 mg/kg en duplicat.

Pour l'Andosol, les dopages en CLD du sol sont réalisés sur 2 niveaux de concentration de 1 à 10 mg/kg en duplicat.

Les résultats par sol sont présentés aux tableaux 12 à 14.

Dopage en CLD (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)	Taux de récupération du CLD%
0,12	0,16	138%
0,11	0,16	140%
0,26	0,35	133%
0,27	0,28	103%
0,53	0,71	134%
0,50	0,65	131%
1,08	1,31	122%
1,11	1,33	119%
9,60	9,80	102%
9,89	10,37	105%

Tableau 12 : Taux de récupération de la chlordécone dans le Nitisol (2 réplicats par niveau)

Le rendement d'extraction moyen est de 123% avec un écart-type de 15% pour un dopage de 0.1 à 10 mg/kg dans le Nitisol. Les valeurs les plus élevées sont pour les niveaux de dopages les plus faibles.

Dopage en CLD (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)	Taux de récupération du CLD%
0,11	0,12	107%
0,11	0,12	110%
0,26	0,34	132%
0,26	0,17	66%
0,51	0,69	136%
0,49	0,65	134%
1,19	1,22	103%
1,03	1,25	122%
9,86	10,84	110%
9,44	10,48	111%

Tableau 13 : Taux de récupération de la chlordécone dans le Ferralsol (2 réplicats par niveau)

Le rendement d'extraction moyen est de 113% avec un écart-type de 20% pour un dopage de 0.1 à 10 mg/kg dans le Ferralsol.

Dopage en CLD (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)	Taux de récupération du CLD%
1,13	1,14	101%
1,07	0,88	82%
9,58	8,29	87%
10,00	9,88	99%

Tableau 14 : Taux de récupération de la chlordécone dans l'Andosol (2 réplicats par niveau)

Le rendement d'extraction moyen est de 92% avec un écart-type de 9% pour un dopage de 1 à 10 mg/kg dans l'Andosol.

- Sol Nitisol, Ferralsol et Andosol :

Pour évaluer l'efficacité de l'extraction sur les 3 sols et l'ensemble des niveaux de concentration, des biais sont calculés pour l'ensemble des données et sont comparés entre eux ($\text{Biais\%} = (\text{teneur retrouvée} - \text{teneur théorique}) \times 100 / \text{teneur théorique}$)

Les biais observés pour les 3 sols dans un domaine de 0.1 à 10 mg/kg sont présentés avec la *Figure 19*.

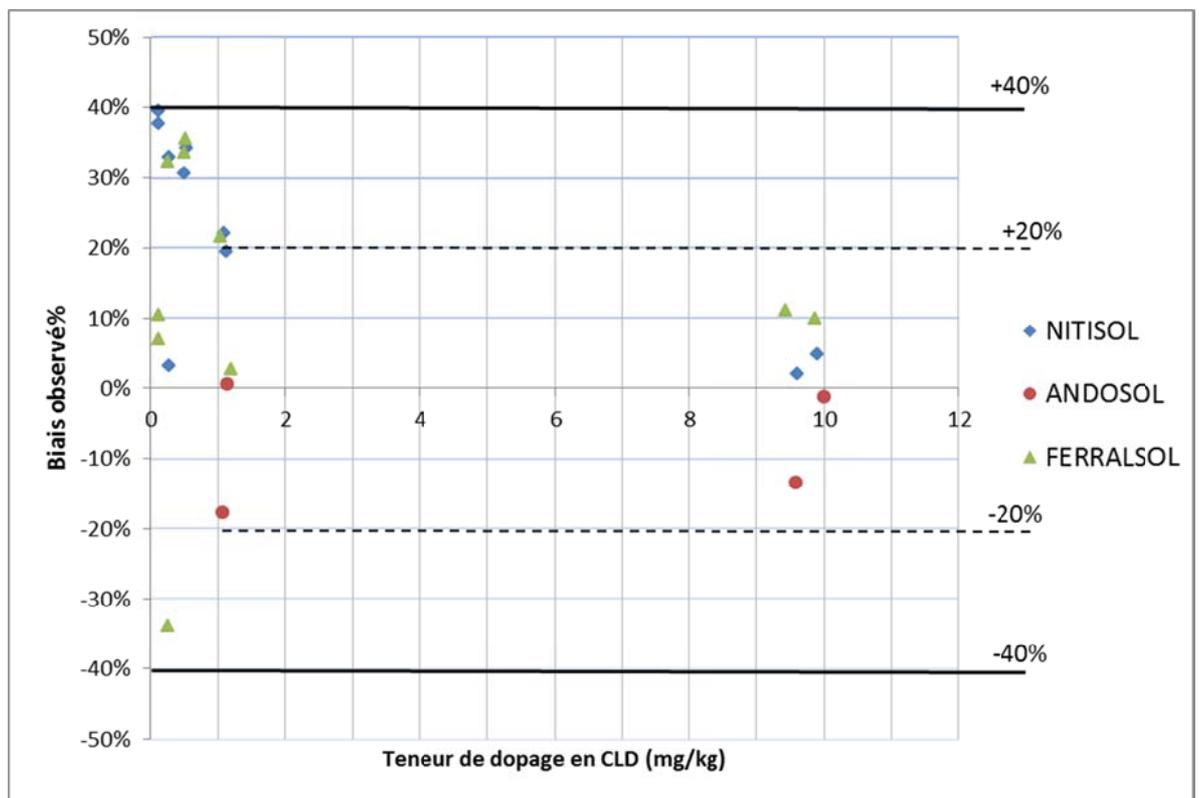


Figure 19 : Biais observés en fonction du type de sol et de la teneur en CLD

L'ensemble des biais sont compris entre $\pm 40\%$ pour les dopages de 0.1 à 0.5 mg/kg pour le sol Nitisol et Ferralsol.

L'ensemble des biais sont compris entre $\pm 20\%$ pour les dopages de 1 à 10 mg/kg pour la plupart des sols Nitisol, Ferralsol et Andosol.

L'efficacité de la méthode est identique pour l'ensemble des sols.

Ces données permettront d'estimer l'incertitude de la méthode d'analyse.

5.3. ETUDE DE LA SPECIFICITE

Les essais réalisés par ajouts dosés pendant la pré-validation (§3.1.5) ont permis d'évaluer la spécificité de la méthode pour les 3 sols étudiés lorsqu'ils sont soumis à des ajouts de matière organique exogène. Une comparaison des teneurs en chlordécone a été réalisée par une quantification par étalonnage « externe » dans le solvant et par la méthode des ajouts dosés.

Les résultats ont montré que les ajouts dosés ne sont pas nécessaires et que l'utilisation de la CLD13 comme étalon interne est suffisante pour prendre en compte les effets de matrice.

La spécificité est également abordée en §5.2 en comparant les résultats de l'efficacité de l'extraction sur 3 sols dans le domaine des teneurs des sols du projet. La méthode est considérée efficace pour l'ensemble des sols.

La spécificité est ensuite évaluée (§5.3) en comparant l'influence de l'ajout de matière organique due aux procédés de traitement (Biogénie 8 et 50% en compost, et Daramend® 6%, 12% et 20%) sur la détermination de la teneur en CLD dans les 3 sols. Cette étude a été évoquée en §3.1.5, lors des tests préliminaires, pour évaluer la nécessité des ajouts dosés. L'ensemble des analyses sont à nouveau réalisées.

Tous les sols sont préparés le même jour à partir d'une souche identique de chacun des sols.

La dilution par l'ajout de matière organique est prise en compte dans les résultats.

Les résultats pour chacun des sols sont donnés aux *Tableau 15*, *Tableau 16* et *Tableau 17*.

Sol Andosol	Teneur en chlordécone (mg/kg)	Teneur en chlordécone-5bhydro (mg/kg)
0%	14,3	0,143
6% Daramend®	14,0	0,116
12% Daramend®	15,9	0,129
20% Daramend®	17,0	0,173
8% compost	13,5	0,117
50% compost	18,0	0,152

Tableau 15: Teneur en CLD mesurée sans et avec ajout de matière organique exogène dans l'andosol

Sol Nitisol	Teneur en chlordécone (mg/kg)	Teneur en chlordécone-5bhydro (mg/kg)
0%	1,29	<0,05
6% Daramend®	1,11	<0,05
12% Daramend®	1,08	<0,05
20% Daramend®	1,15	<0,05
8% compost	1,12	<0,05
50% compost	1,29	<0,05

Tableau 16 : Teneur en CLD mesurée sans et avec ajout de matière organique exogène dans le nitisol

Sol Ferralsol	Teneur en chlordécone (mg/kg)	Teneur en chlordécone-5bhydro (mg/kg)
0%	2,12	<0,05
6% Daramend®	2,24	<0,05
12% Daramend®	2,44	<0,05
20% Daramend®	2,40	<0,05
8% compost	2,80	<0,05
50% compost	2,52	<0,05

Tableau 17: Teneur en CLD mesurée sans et avec ajout de matière organique exogène dans le ferralsol

Les résultats sont présentés graphiquement (Figure 20, Figure 21, Figure 22 et Figure 23) en y ajoutant les bornes d'erreur correspondant aux incertitudes de mesures estimées au §5.5.

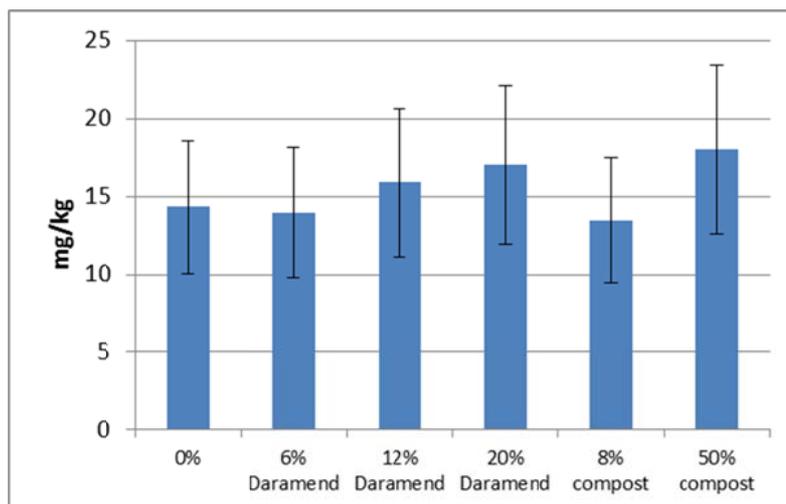


Figure 20 : Teneur en CLD mesurée dans l'Andosol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude \pm 30%)

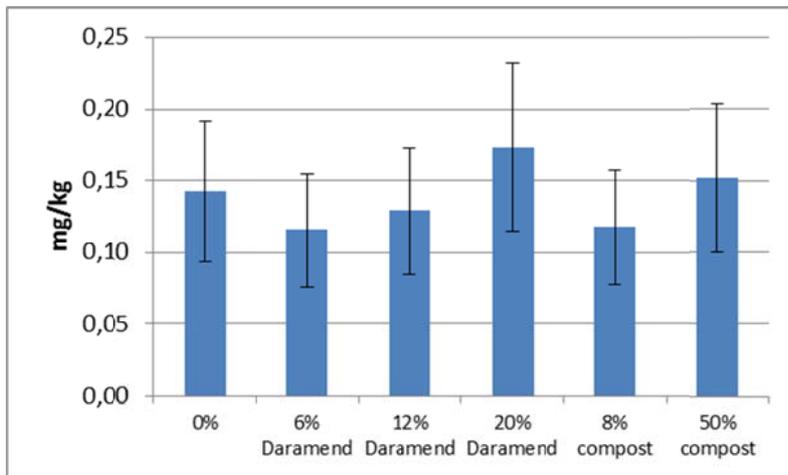


Figure 21 : Teneur en CLD-5hydro mesurée dans l'Andosol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude $\pm 40\%$)

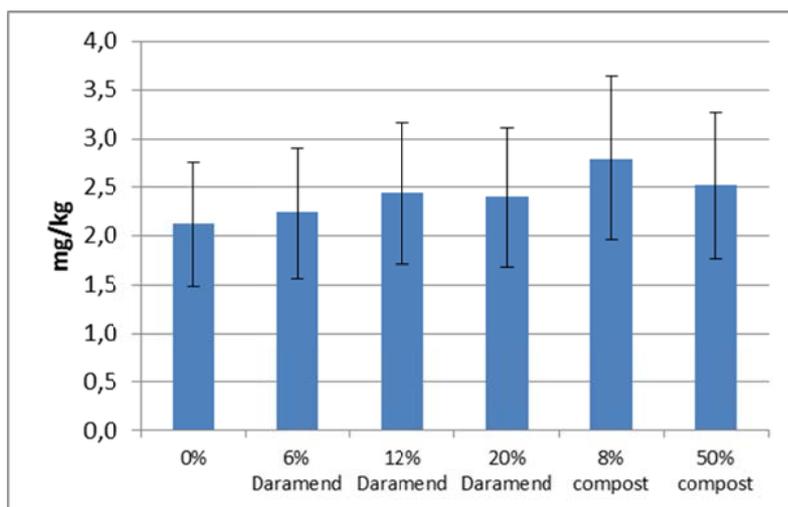


Figure 22 : Teneur en CLD mesurée dans le Ferralsol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude $\pm 30\%$)

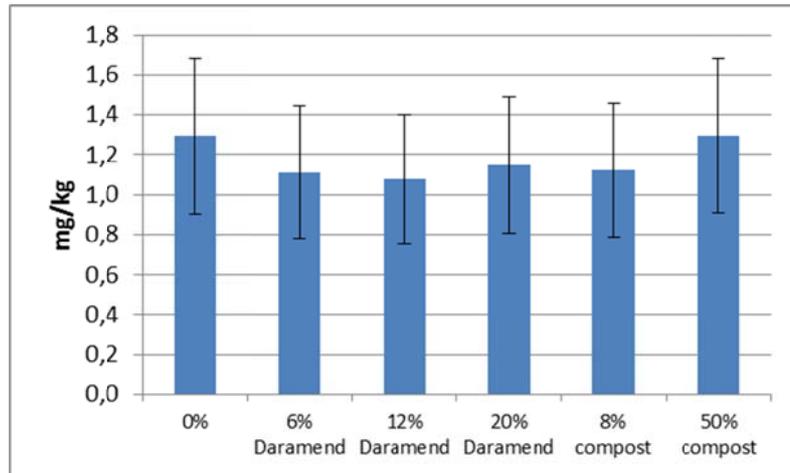


Figure 23 : Teneur en CLD mesurée dans le Nitisol sans et avec ajout de matière organique (barre d'erreur = incertitude $\pm 30\%$)

Les teneurs mesurées dans les 3 sols avec ajout de matière organique sont équivalentes à la teneur du sol natif (sans ajout) puisque ces valeurs (avec l'incertitude associée) sont comprises dans la barre d'incertitude du sol sans ajout (0%).

La méthode est donc considérée également applicable pour les 3 sols avec les ajouts de matière organique du procédé Daramend® et Biogénie.

5.4. LA LIMITE DE QUANTIFICATION

5.4.1. Estimation de la limite de quantification

La limite de quantification instrumentale est de 0.05 mg/kg en chlordécone (§3.1.6).

L'objectif est de vérifier qu'une limite de quantification estimée est acceptable. L'acceptabilité est basée par convention sur son exactitude, évaluée par dopage des sols à sa valeur estimée.

Pour évaluer si cette limite de quantification instrumentale est bien choisie, les résultats obtenus lors du test de l'efficacité de l'extraction sont utilisés (dopages à 0.1 et 0.25 mg/kg, *Tableau 18*).

Sol	Dopage en chlordécone (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)	Taux de récupération %
Nitisol	0,12	0,17	138%
	0,11	0,16	140%
	0,27	0,35	133%
	0,27	0,28	103%
	0,11	0,12	107%
Ferralsol	0,11	0,12	110%
	0,26	0,34	132%
	0,26	0,17	66%

Tableau 18: Rendement d'extraction après dopage à 0.1 et 0.25 mg/kg en CLD du sol NIT et FRL

Les rendements pour ces 8 extractions à 2 fois (0.1 mg/kg) et 5 fois (0.25 mg/kg) la limite de quantification instrumentale sont compris entre 66% et 140%.

L'incertitude (k=2) évaluée à partir de l'efficacité de la répétabilité/reproductibilité sur le sol Andosol (§5.55.5) pour la chlordécone-5bhydro a été évaluée à 40% pour une teneur de 0.15 mg/kg.

En prenant en compte cette valeur d'incertitude, l'ensemble des ajouts retrouvés pour le dopage du sol Nitisol et Ferralsol à 0.1 et 0.25 mg/kg sont compris dans cette valeur d'incertitude de 40%.

Les résultats obtenus pour évaluer la limite de quantification semblent montrer que la limite de quantification de 0.05 mg/kg est réaliste. Les biais est inférieur à 40% alors que la limite est fixée à 60% par la norme.

5.4.2. Vérification de la limite de quantification

La teneur de 0.05 mg/kg et une valeur plus faible de 0.03 mg/kg sont testées comme limite de quantification par dopage des 3 sols NIT, FRL et AND sans ajout de matière organique exogène (sols étudiés au §5.2).

L'analyse de ces 3 échantillons a montré que la chlordécone n'est pas détectée pour une valeur de LQ à 0,05 mg/kg uniquement dans l'Andosol.

La CLD est détectée dans le sol Nitisol. Le mode opératoire est modifié pour quantifier cette teneur : l'extrait ASE est fractionné 7 fois au lieu de 10. La CLD est quantifiée à une teneur de 0.018 et de 0.021 mg/kg pour le Nitisol soit une moyenne de 0.019 mg/kg. Cette valeur, 1.5 à 2.5 fois plus faibles que les niveaux testés, sera donc soustraite des dopages réalisés pour ce sol.

Pour le sol FRL, la teneur en CLD est de 0,23 mg/kg. Un autre sol FRL a donc été à nouveau prélevé en Martinique. La CLD n'a pas été détecté dans ce nouveau sol.

Les LQ de 0.03 mg/kg et 0.05 mg/kg sont évaluées dans des conditions de fidélité intermédiaire (Tableau 19 et Tableau 20):

- La répétabilité (résultat d'essai obtenu par la même méthode, même opérateur, même équipement et même jour) sera prise en compte en doublant l'extraction (2 extractions sur 2 échantillons du même lot) sur les 3 sols.

- La reproductibilité est prise en compte en réalisant cette série d'extraction sur les 3 sols à 6 dates différentes.

Type de sol - date 1 et 2	Teneur initiale avant ajout (mg/kg)	Teneur ajoutée (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)		Teneur retrouvée - teneur initiale (mg/kg)		Taux de récupération %	
			r1	r2	r1	r2	r1	r2
Nitisol - 1	0,019	0,030	0,043	0,044	0,024	0,024	80%	82%
Nitisol -2	0,019	0,030	0,040	0,039	0,021	0,019	70%	65%
Andosol -1	0,000	0,030	0,025	0,022	0,025	0,022	85%	73%
Andosol -2	0,000	0,030	0,025	0,025	0,025	0,025	82%	82%
Ferralsol -1	0,000	0,030	0,026	0,022	0,026	0,022	85%	73%
Ferralsol -2	0,000	0,030	0,020	0,022	0,020	0,022	67%	72%

Tableau 19 : Taux de récupération en chlordécone après dopage à 0.03 mg/kg dans les sols NIT, AND et FRL avec r1 et r2 répétabilité

Type de sol - n° série	Teneur initiale avant ajout (mg/kg)	Teneur ajoutée (mg/kg)	Teneur retrouvée (mg/kg)		Teneur retrouvée - Teneur initiale (mg/kg)		Taux de récupération %	
			r1	r2	r1	r2	r1	r2
Nitisol - 1	0,019	0,050	0,058	0,059	0,039	0,040	78%	80%
Nitisol -2	0,019	0,050	0,056	0,054	0,037	0,035	73%	70%
Andosol -1	0,000	0,050	0,050	0,043	0,050	0,043	101%	86%
Andosol -2	0,000	0,050	0,047	0,051	0,047	0,051	95%	103%
Ferralsol -1	0,000	0,050	0,037	0,041	0,037	0,041	75%	83%
Ferralsol -2	0,000	0,050	0,033	0,032	0,033	0,032	66%	65%

Tableau 20 : Taux de récupération en chlordécone après dopage à 0.05 mg/kg dans les sols NIT, AND et FRL avec r1 et r2 répétabilité

Un traitement statistique a été utilisé pour permettre de déterminer le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire (prise en compte de la répétabilité et des essais inter-séries).

Le *Tableau 21* reprend les différents résultats pour la chlordécone.

CLD en mg/kg		
Niveau de dopage (LQ)	0,030	0,050
Moyenne teneurs retrouvées (zLQ)	0,023	0,041
S _r / CV _r	0.002 / 7%	0.003 / 7%
S _R / CV _R	0.001 / 6%	0.006 / 15%
S _{Fi} / CV _{Fi}	0.002 / 10%	0.007 / 16%

Tableau 21 : Variabilité des résultats à 0.03 mg/kg et 0.05 mg/kg en chlordécone dans les 3 sols en répétabilité (extraction doublée), reproductibilité (6 jours différents) et fidélité intermédiaire - avec : S_r, écart-type de répétabilité ; S_R écart-type inter-série ; S_{Fi} écart-type de fidélité intermédiaire ; CV_r coefficient de variation de répétabilité ; CV_R coefficient inter-série ; CV_{Fi} coefficient de variation de fidélité intermédiaire.

L'exactitude de la limite de quantification est ensuite comparée par rapport à l'EMA de 60% de la LQ (valeur conventionnelle issue de la Norme NF T 90-210 §5.2.3).

LQ (mg/kg)	Moyenne niveau retrouvée (zLQ)	Ecart-type de fidélité (sFI)	LQ + 60% x LQ	zLQ + 2sFI	zLQ - 2sFI	LQ - 60% x LQ
0,030	0,023	0,002	0,048	0,027	0,018	0,012
0,050	0,041	0,007	0,080	0,054	0,027	0,020

Tableau 22 : Vérification des 2 niveaux de LQ présumées par rapport à +/- 60% x LQ.

La Figure 24 reprend l'ensemble de ces valeurs pour les 2 concentrations testées.

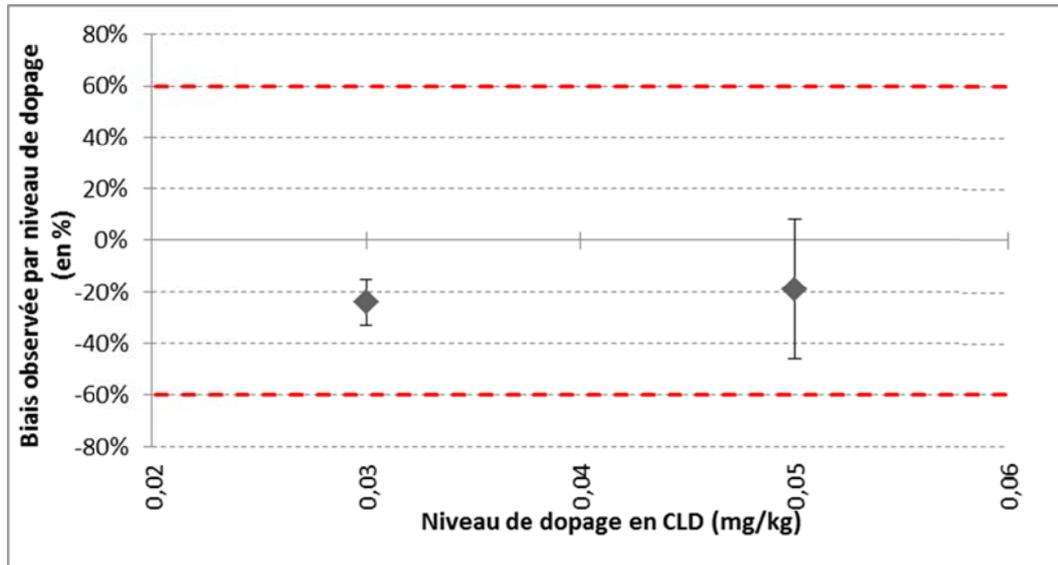


Figure 24 : Vérification des 2 niveaux de LQ présumées par rapport à +/- 60% x LQ (Moyenne des 12 teneurs retrouvées ; barre d'erreur = 2xS_{Fi} ; en pointillée rouge = EMA de 60%).

L'estimation de la limite de quantification choisie est validée si à la fois,

- zLQ - 2s_{Fi} > LQ - 60% LQ
- zLQ + 2s_{Fi} > LQ + 60% LQ

Ces 2 critères sont vérifiés pour les 2 concentrations testées.

La norme NF T 90-210 demande également que pour chaque niveau soit réalisé un test indiquant si l'écart observé entre la moyenne des résultats et la valeur de dopage est significatif. Il est donc demandé de calculer pour ces 2 niveaux un écart normalisé (E_N) de la façon suivante :

$$E_N = \frac{LQ - zLQ}{\sqrt{\left(\frac{s_{Fi}^2}{n} + U_{ref}^2\right)}}$$

Avec n : le nombre de valeurs utilisées pour calculer la moyenne (n=12)

U_{ref} : incertitude type associée à la valeur de référence (estimée par calcul à 1%), équivalent à l'incertitude de dopage.

Les valeurs de E_N pour les LQ testées à 0.03 mg/kg et 0.05 mg/kg sont de 1.12 et 1.37 respectivement.

Ces écarts normalisés sont inférieurs à 2 (Norme NF T 90-210 §5.5.4) , on peut donc considérer que ces écarts entre LQ et zLQ ne sont pas significatifs.

Les 2 concentrations testées de 0.03 mg/kg et 0.05 mg/kg sont vérifiées comme limite de quantification.

La valeur de 0.03 mg/kg est retenue comme étant la limite de quantification de la méthode.

5.5. REPETABILITE ET REPRODUCTIBILITE DE LA METHODE

Un plan d'expérience, de type profil d'exactitude, est mis en place pour estimer la répétabilité et reproductibilité. Il s'agit de calculer des variabilités intra et inter-série conformément à la norme NF T 90-210.

Des sols naturels d'origines différentes, Nitisol, Ferralsol et Andosol correspondant à 3 niveaux de concentration différents en chlordécone (1.1, 2 et 16.1 mg/kg), sont analysés sans ajout de matière organique exogène.

La répétabilité (résultat d'essai obtenu par la même méthode, même opérateur, même équipement et même jour) sera prise en compte en doublant l'extraction (2 extractions sur 2 échantillons du même lot) sur les 3 sols (norme NF-T 90-210). La reproductibilité est prise en compte en réalisant cette série d'extraction à 5 dates différentes.

Les analyses sont faites de façon indépendante entre chacune des 5 séries d'analyse (préparation d'un nouvel étalonnage avec une solution fille différente).

La chlordécone-5bhydro est présente uniquement dans le sol Andosol. Le test de répétabilité et reproductibilité est donc réalisé sur ce seul sol et à 1 seul niveau de concentration (0,160 mg/kg), celui mesuré dans cet échantillon.

Un traitement statistique a été utilisé pour permettre de déterminer le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire (prise en compte de la répétabilité et des essais inter-séries). Ce traitement suit la norme T90-210.

Le **Tableau 23** reprend les différents résultats de la chlordécone et la chlordécone-5bhydro :

n° série	CLD en mg/kg						CLD-5BH en mg/kg	
	Nitisol		Ferralsol		Andosol		Andosol	
	r1	r2	r1	r2	r1	r2	r1	r2
Série 1	1,00	1,10	1,90	1,93	15,9	15,2	0,155	0,177
Série 2	1,09	1,06	2,06	1,88	16,1	14,7	0,159	0,146
Série 3	1,25	1,24	1,89	1,97	19,2	16,4	0,227	0,189
Série 4	1,14	1,04	2,07	2,13	16,4	14,7	0,134	0,109
Série 5	1,23	1,20	2,09	2,17	18,6	17,1	0,164	0,16

Tableau 23 : Teneurs en chlordécone et chlordécone-5bhydro dans les 3 sols obtenues en répétabilité (extraction doublé) et en reproductibilité (5 jours différents = 5 séries) ; avec r1 et r2 répétabilité).

Les variations en répétabilité, reproductibilité et fidélité intermédiaire sont calculées (Tableau 24) à partir de l'ensemble de ces résultats.

Paramètre statistique	CLD en mg/kg			CLD-5BH en mg/kg
	Nitisol	Ferralsol	Andosol	Andosol
Moyenne (n=10)	1.14	2.01	16.1	0.162
S_r / CV_r	0.05 / 4%	0.07 / 4%	1.3 / 8%	0.017 / 10%
S_R / CV_R	0.08 / 7%	0.09 / 4%	0.7 / 4%	0.029 / 18%
S_{Fi} / CV_{Fi}	0.09 / 8%	0.11 / 6%	1.5 / 9%	0.033 / 20%

Tableau 24 : Variabilité des résultats de la chlordécone et chlordécone-5bhydro dans les 3 sols en répétabilité (extraction doublé), reproductibilité (5 jours différents) et fidélité intermédiaire (repet/repro) ; avec : S_r , écart-type de répétabilité ; S_R écart-type inter-série ; S_{Fi} écart-type de fidélité intermédiaire ; CV_r coefficient de variation de répétabilité ; CV_R coefficient inter-série ; CV_{Fi} coefficient de variation de fidélité intermédiaire.

Les coefficients de variations de fidélité intermédiaire (répétabilité et reproductibilité) sont inférieurs à 10% pour les 3 niveaux de concentrations en CLD (1, 2 et 16 mg/kg) dans les 3 sols.

Le coefficient de variation de la chlordécone-5bhydro est plus élevé avec 20% pour une teneur plus faible de 0,15 mg/kg.

Les incertitudes (k=2) arrondies à partir de ces résultats sont : 15%, 10% et 20% pour les sols Nitisol, Ferralsol et Andosol pour une teneur de 1 à 16 mg/kg.

L'incertitude (k=2) est estimée à 40% pour une teneur de 0.15 mg/kg (soit 3 fois la limite de quantification instrumentale).

5.6. INCERTITUDE DE LA METHODE

L'incertitude est calculée à partir de l'évaluation de la répétabilité/reproductibilité sur les 3 sols (§5.5), des essais relatifs à la limite de quantification (§5.4.2) et de l'étude de l'efficacité de l'extraction (§5.2).

Par définition, l'incertitude (U) est composée de la fidélité intermédiaire (S_{Fi}) et du biais (U_b) de la méthode (ISO/DIS 11352, 2010) :

$$U = \sqrt{S_{Fi}^2 + U_b^2}$$

La composante U_b correspond à la moyenne quadratique des biais observés (RMS_b) et à l'incertitude sur la concentration de dopage (U_{add}) :

$$U_b = \sqrt{RMS_b^2 + U_{add}^2}$$

$$RMS_b = \sqrt{\frac{\sum b_i^2}{n}}$$

Avec : b_i : le biais observé par rapport à une récupération totale de 100%

n : le nombre d'essai de récupération (avec $n \geq 6$)

Les valeurs de coefficient de variation de fidélité intermédiaire (S_{Fi}) sont de 8%, 6% et 9% pour les sols Nitisol (1 mg/kg), Ferralsol (2 mg/kg) et Andosol (16 mg/kg) respectivement.

Les valeurs de s_{Fi} sont de 10% et de 16% pour des dopages à 0.03 mg/kg et 0.05mg/kg.

L'incertitude sur la valeur de dopage à la LQ (U_{add}), calculée à partir des pesées réalisées pour la préparation des différentes solutions, est de 1%.

Le biais moyen (RMS_D), calculé à partir des biais observés lors de l'étude de l'efficacité de l'extraction, est de 13%.

L'incertitude U est majorée d'un facteur $k=2$ et la valeur est arrondie de cinq en cinq pour constituer la valeur d'incertitude conformément à la norme NF T 90-210.

L'incertitude générale élargie calculée par teneur en CLD est donnée au **Tableau 25**.

Teneur en CLD (mg/kg)	0,03	0,05	1	2	16
S_{Fi} (%)	10%	16%	8%	6%	9%
RMS_D (%)	13%	13%	13%	13%	13%
U_{add} (%)	1%	1%	1%	1%	1%
Incetitude U (%)	16%	21%	15%	14%	16%
Incetitude élargie ($k=2$) (%)	32%	41%	31%	29%	31%
Incetitude élargie arrondie (%)	35%	40%	30%	30%	30%

Tableau 25 : Calcul de l'incertitude élargie ($k=2$) de la CLD en fonction de sa teneur dans les sols.

Pour harmoniser les valeurs, l'incertitude de mesure qui est associée au résultat en chlrodécone est de 40% de 0.03 mg/kg à 1 mg/kg, et de 30% pour une teneur supérieure à 1 mg/kg (**Tableau 26**).

Teneur en CLD	0,03 à 1 mg/kg	> 1 mg/kg
Incertitude associée (k=2)	40%	30%

Tableau 26 : Incertitude (k=2) de la CLD en fonction de sa teneur dans les sols.

6. Conclusion

La méthode consiste en une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MSMS) après une extraction par fluide pressurisé (ASE).

Un traceur d'extraction (transnonachlore) est pris en compte pour corriger les résultats, et un étalon interne est ajouté (chlordecone marqué ^{13}C) pour mimer au mieux le comportement de la molécule d'intérêt et supprimer les effets éventuels lors de son analyse.

Les paramètres clés de la méthode (linéarité, efficacité de l'extraction, spécificité, répétabilité, reproductibilité, fidélité intermédiaire et limite de quantification) ont été validés en s'appuyant sur la norme NF T 90-210.

La limite de quantification est de 0,03 mg/kg pour la CLD.

L'incertitude élargie ($k=2$) est de 40 % pour des teneurs en CLD inférieures ou égales à 1 mg/kg, et de 30 % pour des valeurs supérieures à 1 mg/kg.

Seul le paramètre de la justesse n'est pas être estimé puisqu'il n'existe aucun matériau de référence et que les essais inter-laboratoire ne sont disponibles. Ce point faible constitue un challenge au niveau français qui est actuellement à l'étude. Dans notre rapport, ce paramètre est estimé par l'étude de l'efficacité de l'extraction et la détermination de la limite de quantification (dopage des sols).

La méthode d'analyse est accréditée par le Cofrac dans le cadre de la portée flexible du service MMA au BRGM (Décembre 2011) et a été appliquée dans le projet « Décontamination de sols pollués par la chlordécone » coordonné par le BRGM (Dictor et al, 2011).

7. Remerciements

L'aide fournie par Y.M. Cabidoche (INRA Guadeloupe), pour l'identification des parcelles où ont été réalisés les prélèvements de sols contaminés a été très appréciée.

Les échantillons de sols non contaminés ont pu être prélevés en Martinique grâce à l'aide logistique et scientifique de l'IRD/CNRS, L. Rangon, T. Woignier et H. Macarie ; merci à eux.

La convention INRA-11-AAP DEMICHLORD-02-01 a permis la finalisation de certains aspects du travail présenté ici.

8. Bibliographie

Amalric A., Henry B., Berrehouc A. (2004) – Determination of chlordecone in soils by GC/MS. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 86 (1-2) : p.15-24.

Anastassiades M., Mastovska K., Lehotay. S.J. (2003) - Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1015: p.163–184.

Borsetti A.P. and Roach J.A.G. (1978) - Identification of kepone alteration products in soil and mullet. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 20: p. 241-247.

Brunet D., Woignier T., Lesueur-Jannoyer M., Achard R., Rangon L., G. Barthès B. (2009) - Determination of soil content in chlordecone (organochlorine pesticide) using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Original Research Article Environmental Pollution*. 157(11): p.3120-3125.

Cabidoche Y.-M., Clermont-Dauphin C., Lafont A., Sansoulet J., Cattan P., Achard R., Caron A., Chabrier C. (2006) - Stockage dans les sols à charges variables et dissipation dans les eaux de zoocides organochlorés autrefois appliqués en bananeraies aux Antilles. Relation avec les systèmes de culture. Rapport final d'exécution. 101 p.

Cabidoche Y.-M., Jannoyer M., Vannièrre H., (2006) - Conclusions du Groupe d'Etude et de Prospective « Pollution par les organochlorés aux Antilles ». Aspects agronomiques. Contributions CIRAD INRA. 66 p.

Cairns T, Siegmund EG, Doose GM. (1982). Liquid chromatography-mass spectrometry of Kepone hydrate, Kelevan and mirex. *Analytical Chemistry* 54(6): 953-957.

Concha-Grana E., Turnes-Carou M.I., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahia P., Fernandez-Fernandez E., Prada-Rodriguez D. (2004) - Development of pressurized liquid extraction and cleanup procedures for determination of organochlorine pesticides in soils. *Journal of Chromatography A*, 1047 : p 147–155.

Dawson, G. W., W. C. Weimer et S. J. Shupe (1979) - Kepone-A case study of a persistent material." *The American Institute of Chemical Engineers (AIChE) Symposium Series*. 75(190): 366-374.

Dictor M.C., Mercier A., Lereau L., Amalric L., Bristeau S., Mouvet C., avec la collaboration de Auger P., Béchu E., Breeze D., Touzelet S., Tris H. et Henry B. (2011) Ré Décontamination de sols pollués par la chlordécone. Validation de procédés de dépollution physico-chimique et biologique, étude des produits de dégradation et

amélioration de la sensibilité analytique pour la chlordécone dans les sols. Rapport final. BRGM/RP-59481-FR, 201 p., 70 fig., 42 tabl., 6 ann.

Fariss M.W., Smith J.D., Blanke R.V., Guzelian P.S. (1982) - Convenient preparation of chlordecone alcohol (kepone alcohol) and its deuterated, tritiated and dechlorinated derivatives; *J. Agric. Food Chem.* 30 (1), p.185–187.

González-Rodríguez R.M., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. (2009) - Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid–liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.* 1216: p. 6033–6042.

Harless R.L., Harris D.E., Sovocool G.W., Zehr R. D., Vyilson N. K. , Oswald E. O. (1978) - Mass spectrometric analyses and characterization of Kepone in environmental and human samples. *Biomedical Mass Spectrometry.* 5(3): p.232-237.

Huckins JN, Stalling DL, Petty JD, et al. (1982) - Fate of Kepone and mirex in the aquatic environment. *J Agric Food Chem* 30(6):1020-1027.

ISO/DIS 11352 (2010) – Water quality – Determination of measurement uncertainty based on validation data.

Kirchner M., Huskova R., Matisova E., Mocak J. (2008) - Fast gas chromatography for pesticide residues analysis using analyte protectants. *Journal of Chromatography A.* 1186: p.271–280

Mastovska K., Lehotay S.J., Anastassiades M. (2005) - Combination of analyte protectants to overcome matrix effects in routine GC analysis of pesticide residues in food matrixes. *Anal. Chemistry.* 77 (2005), p. 8129-8137.

Moriwaki H., Hasegawa.A (2004) - Detection of chlordecone by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass spectrometry.* 18 (11), p.1243-1244.

Mosernan RF, Crist HL, Edger-ton TR, et al. (1977) - Electron capture gas chromatographic determination of Kepone residues in environmental samples. *Arch Environ Contam Toxicol* 6(2-3):221-231.

Multigner L., Ndong J.R., Giusti A., Romana M., Delacroix-Maillard H., Cordier S., et al. (2010) - Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology.* 28: p. 3457-3462.

NF EN T90-210 (2009) - Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire. 43p.

Payá P., Anastassiades M., Mack D., Sigalova I., Tasdelen B., Oliva J., Barba A. (2007) - Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged

and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection; *Anal Bioanal Chem.* 389: p.1697–1714.

Poole C.F. (2007) - Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography. Review. *Journal of Chromatography A*, 1158: p. 241-250.

Saleh, F. T., and G. F. Lee. (1978) - Analytical methodology for kepone in water and sediment. *Environmental Science & Technology* 12:297-301.

Soine W. H., Forrest T. R., Smith J. D. (1983) - Thermal reduction of chlordecone in the presence of alcohol; *Journal of Chromatography*, 281 : p 95-99.

Wang Y., Jin H.Y., Ma S.C., Lu J., Lin R.C. (2011) - Determination of 195 pesticide residues in Chinese herbs by GC-MS using AP. *Journal of Chromatography A*. 1218: p.334-342.



Centre scientifique et technique
Service MMA

3, avenue Claude-Guillemin
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34