

Document public



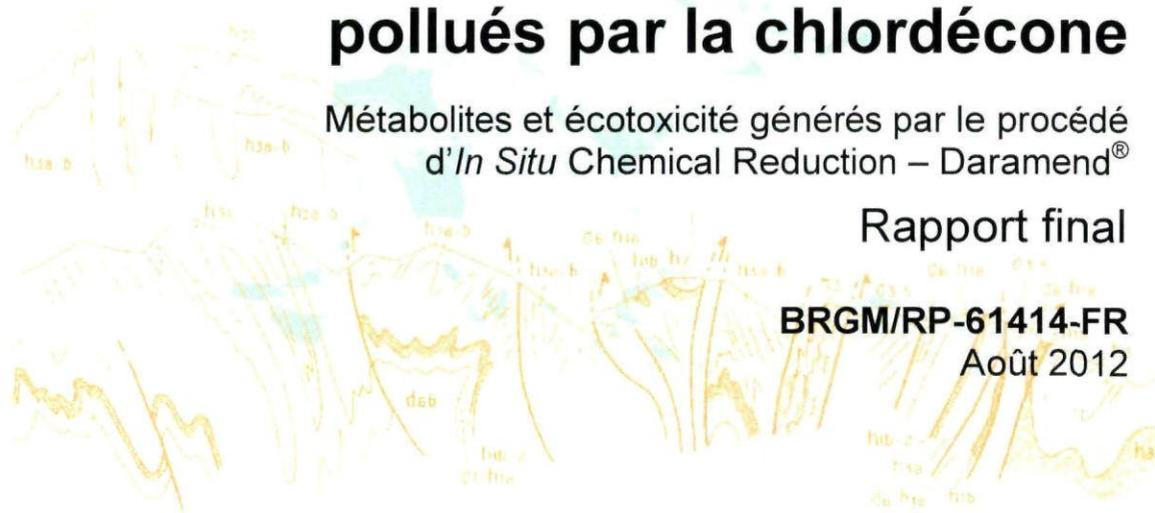
Décontamination de sols pollués par la chlordécone

Métabolites et écotoxicité générés par le procédé d'*In Situ* Chemical Reduction – Daramend®

Rapport final

BRGM/RP-61414-FR

Août 2012



Géosciences pour une Terre durable

brgm



3 5000 00080096 0

Décontamination de sols pollués par la chlordécone

Métabolites et écotoxicité générés par le procédé d'*In Situ* Chemical Reduction – Daramend®

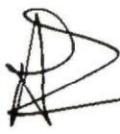
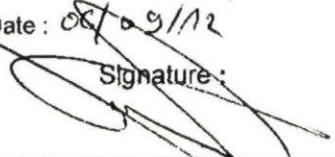
Rapport final

BRGM/RP-61414-FR

Août 2012

Étude réalisée dans le cadre des opérations de Service public du BRGM 2009 10POLA27 correspondant à la convention BRGM-MEEDDM SU 000 7446 MEEDDM/DGPR

C. Mouvet, S. Bristeau

<p>Vérificateur : Nom : AMALRIC L. Date : 20/8/12 Signature : </p>	<p>Approbateur : Nom : Roy Steyler Date : 08/09/12 Signature : </p>
--	---

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 9001:2008.

Mots-clés : Chlordécone, Produits de transformation, Écotoxicologie, Andosol, Nitisol, Ferralsol, Remédiation.

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

Mouvet C., Bristeau S. (2012) – Décontamination de sols pollués par la chlordécone. Métabolites et écotoxicité générés par le procédé d'*In-Situ* Chemical Reduction – Daramend®. Rapport final. BRGM/RP-61414-FR. 58 p., 33 fig., 13 tabl.

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

Synthèse

Le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer a mandaté le BRGM, par la convention SU 000 7446 MEEDDM/DGPR, pour travailler sur la décontamination de sols antillais pollués par la chlordécone (CLD) en : i) améliorant des procédés de traitabilité testés en laboratoire et ii) approfondissant les protocoles d'analyse de métabolites générés par les traitements de dépollution.

Les travaux antérieurs d'essais de traitabilité en laboratoire (Dictor *et al.*, 2011) ayant montré l'efficacité du procédé d'*In Situ* Chemical Reduction (ISCR) avec l'amendement Daramend® et l'absence d'efficacité du procédé par compostage, les travaux de la présente convention se sont focalisés sur le second objectif initialement prévu, la recherche des métabolites, et sur un troisième thème apparu lors de discussions avec le commanditaire, la prise en compte de l'écotoxicologie.

Deux méthodes d'exploitation des spectres de masse des pics chromatographiques des produits de transformation de la CLD formés par ISCR ont été mises en œuvre pour identifier ces substances. La première méthode consiste à rechercher des fragments cyclopentadiènes caractéristiques de la chlordécone. La seconde consiste à rechercher les masses correspondant aux ions moléculaires des composés.

Outre la 5b-monohydroCLD (dont un étalon analytique existe) et la dihydroCLD (dont le spectre de masse est disponible), douze produits de transformation déchlorés sont détectés dans les sols antillais traités par ISCR.

- les produits de dégradation avec une perte de deux chlores ou plus sont retrouvés uniquement dans les sols traités par ISCR avec l'amendement Daramend®. Ces résultats confirment que la diminution des concentrations en chlordécone suite à la mise en œuvre du procédé n'est pas due seulement à une diminution de l'extractabilité de la chlordécone ;
- l'inconnu 1 est le produit de transformation présent avec la plus forte aire relative, entre 3 et 250 fois plus forte que n'importe quelle autre substance identifiée. Son aire relative est plus faible que la chlordécone d'un facteur 13,2 dans l'andosol traité, 5,3 fois dans le nitisol traité et 7,3 fois dans le Ferralsol traité. Son spectre ne correspond pas à celui du chlordécol ni à des composés issus du chlordécol déchloré. L'inconnu 1 n'est pas détecté dans le standard analytique de la CLD mais il est retrouvé à l'état de trace dans le Curlone, la préparation utilisée à l'époque de l'application de la CLD ;
- les recherches des produits de dégradation sur une matrice sable dopée avec 25 mg/kg de CLD et ajout de 1 % de sol agricole, traitée par le procédé Daramend® avec un abattement de 90 % en CLD, avaient permis de retrouver 14 produits de dégradation. Onze de ces 14 produits de dégradation sont retrouvés dans les échantillons de sol antillais « réels » traités par ISCR/Daramend®. Seuls les pics correspondant à la perte de 6 et 7 atomes de chlore et le composé inconnu 5 (trois des quatre composés les plus déchlorés identifiés à partir du sable dopé ayant subi

90 % d'abattement) ne sont pas détectés dans les sols antillais traités. Cette discordance peut s'expliquer par le fait que le sable dopé à 25 mg/kg avait vu son dosage de chlordécone dégradé à 90 %, générant des masses significatives de tous les produits identifiés. Dans les trois sols réels après traitement par ISCR/Daramend[®], les produits de transformation de la CLD avec -6 ou -7 Cl ne sont peut-être pas en masse suffisante pour être détectés. Une autre hypothèse, plus probable, est de considérer que l'efficacité déchlorative de l'ISCR est moindre dans les sols réels que dans du sable ;

- aucun des produits de transformation ne montre d'augmentation continue de son aire relative de pic chromatographique au cours du traitement. Au contraire, la tendance générale est une diminution des aires de pics après un maximum observé vers la moitié de la durée du traitement. Toute une série de réactions se déroulent donc au cours du procédé, et continuent probablement au-delà des six mois de l'expérimentation menée.

Pour prendre en compte d'éventuels effets négatifs du traitement de remédiation, le choix a été fait de procéder à des tests d'écotoxicité aiguë et chronique (pour prendre en compte différents types d'effets) couvrant différents niveaux trophiques (pour estimer les effets possibles sur différents organismes) : une bactérie, *Vibrio fisheri*, avec le test Microtox, un crustacé d'eau douce, *Daphnia magna*, un rotifère d'eau douce, *Brachionus calyciflorus*, une monocotylédone, *Avena sativa*, et une dicotylédone, *Brassica napus*. Deux matrices ont été étudiées : des éluats préparés par lixiviation des sols (de manière à simuler par exemple une eau d'infiltration ou de ruissellement) et les sols eux-mêmes (pour tester l'écotoxicité à l'égard de végétaux poussant sur ces sols).

Six des sept tests réalisés ne montrent aucune différence d'écotoxicité entre les sols traités et les sols témoins. Seul le test basé sur le rotifère *Brachionus calyciflorus* appliqué au nitisol traité montre une réponse plus forte que le nitisol témoin. Il faut toutefois noter que ce test montre une écotoxicité des témoins de l'andosol et du ferralsol plus élevée que celle du nitisol traité. L'effet écotoxique observé sur *Brachionus calyciflorus* dans le nitisol après traitement ISCR/Daramend[®] doit donc être largement relativisé. Au niveau des tests plantes, ni la germination ni la croissance du colza et de l'avoine ne sont affectées par le traitement.

Sommaire

1. Introduction.....	11
2. Mise au point d'une méthode d'identification des produits de déchloration (- 1 Cl à - 10 Cl) de la chlordécone formés par <i>In Situ</i> Chemical Reduction (ISCR) avec Daramend®	13
2.1. EXPLOITATION DES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE	13
2.2. LES LIMITES DU MODE FULL-SCAN	13
2.3. IDENTIFICATION DE PRODUITS DE TRANSFORMATION EN COMBINANT DES FRAGMENTS CYCLOPENTADIÈNE CARACTÉRISTIQUES DE LA CHLORDÉCONE ET LES IONS MOLÉCULAIRES	16
3. Recherche des produits de déchloration dans les extraits de sol antillais traités par ISCR/Daramend®	27
3.1. MÉTHODOLOGIE	27
3.2. ANDOSOL.....	28
3.3. NITISOL.....	31
3.4. FERRALSOL.....	35
3.5. ÉVOLUTION EN FONCTION DU TEMPS DANS LES TROIS SOLS	37
3.6. BILAN DES RECHERCHES DE PRODUITS DE DÉGRADATION DANS LES TROIS SOLS	40
4. Tests d'écotoxicité réalisés sur les sols avant et après traitement par ISCR ..	43
4.1. RAISON D'ÊTRE.....	43
4.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	43
4.2.1. Préparation des éluats.....	43
4.2.2. Tests de toxicité réalisés sur les éluats des sols.....	44
4.2.3. Tests de toxicité réalisés sur les sols.....	45
4.3. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	46
4.3.1. Propriétés physico-chimiques des éluats.....	46
4.3.2. Vérification de la validité des tests biologiques de toxicité	47
4.3.3. Essais d'écotoxicité sur éluats	49
4.3.4. Écotoxicité des sols	50

5. Conclusions - perspectives.....	55
6. Références	57

Liste des figures

Figure 1 : Chromatogrammes en Full-Scan d'un sol AND non traité (en vert) et traité ISCR/Daramend® après six mois de traitement (en rouge).	14
Figure 2 : Chromatogrammes en Full-Scan d'un sol NIT non traité (en vert) et traité ISCR/Daramend® après six mois de traitement (en rouge).	14
Figure 3 : Chromatogrammes en Full-Scan d'un sol FRL non traité (en vert) et traité Daramend® après 6 mois de traitement (en rouge).	15
Figure 4 : Spectre de masse du composé identifié au temps 20,8 min dans l'extrait de sol AND traité par le procédé ISCR/Daramend®.	15
Figure 5 : Chromatogramme de sable dopé en CLD non traité (en vert) et traité par ISCR/Daramend® (en rouge) : présence de six pics chromatographiques avec la masse m/z 204 (caractéristique du fragment C ₅ H ₂ Cl ₄) dans le sable traité.	17
Figure 6 : Chromatogramme SIM de sable dopé en CLD non traité et traité Daramend® : présence de quatre pics chromatographiques à 18,5 min dans le sable traité correspondant aux masses spécifiques (cf. tab. 2) de la CLD – 3Cl : m/z 386, 388, 351 et 353.	19
Figure 7 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 1 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	21
Figure 8 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 2 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	21
Figure 9 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 3 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/ Daramend®	21
Figure 10 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 4 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/ Daramend®	22
Figure 11 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 5 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	22
Figure 12 : Spectre de masse entre 200 et 300 (zoom d'un full-scan) de la dihydroCLD dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	22
Figure 13 : Spectre de masse de référence de la dihydroCLD (bibliothèque NIST).....	23
Figure 14 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – trois atomes de chlore (-3 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	23
Figure 15 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – quatre atomes de chlore (-4 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	24

Figure 16 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – cinq atomes de chlore n° 1 (-5 Cl (1)) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	24
Figure 17 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – cinq atomes de chlore n° 2 (-5 Cl (2)) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	24
Figure 18 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – six atomes de chlore (-6 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	25
Figure 19 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – sept atomes de chlore (-7 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	25
Figure 20 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – sept atomes de chlore (?) (-7 Cl ?) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®	25
Figure 21 : Spectre de masse en full-scan du chlordécol (ou képol) (référence NIST).....	26
Figure 22 : Chromatogramme de l'andosol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence majoritaire du composé inconnu 1 (19,4 min).....	30
Figure 23 : Chromatogramme de l'andosol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence à 15,25 min (noter la différence d'échelle de l'ordonnée par rapport à la figure précédente) du composé dérivé de la CLD identifié comme probablement avec - 7Cl.	31
Figure 24 : Chromatogramme du nitisol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence du composé dérivé de la CLD avec -3Cl (17,4 min).	32
Figure 25 : Chromatogramme du nitisol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence du composé dérivé de la CLD avec -5Cl (16,85 min). Présence de deux « nouveaux » pics (17,0 et 17,1 min) par rapport ceux identifiés lors de la recherche des produits de dégradation dans le sable.....	34
Figure 26 : Chromatogramme du ferralsol contrôle et traité ISCR - Daramend® en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence du composé dérivé de la CLD avec - 2Cl (18,6 min).....	37
Figure 27 : Évolution de l'aire de pic relative de l'inconnu 1 dans les sols contrôles et traités en fonction de la durée du traitement ISCR/Daramend®	38
Figure 28 : Évolution de l'aire de pic relative de l'inconnu 2 dans les sols contrôles et traités en fonction de la durée du traitement ISCR/Daramend®	39
Figure 29 : Évolution de l'aire de pic relative de l'inconnu – 7 Cl, dans les sols contrôles et traités en fonction de la durée du traitement ISCR/Daramend®	39
Figure 30 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par l'avoine cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol témoin (72 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).....	51
Figure 31 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par l'avoine cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol après traitement par ISCR (68 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).	52
Figure 32 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par le colza cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol témoin (72 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).....	52

Figure 33 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par le colza cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol après traitement par ISCR (68 en abscisse correspond à 100 % de nitisol)..... 53

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Masses m/z des fragments cyclopentadiène caractéristiques de la CLD et temps de rétention (min) des pics chromatographiques correspondants présents seulement dans l'échantillon de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.....	16
Tableau 2 :	Masses m/z des ions moléculaires [M] ⁺ et des ions moléculaires -1 Cl de la CLD et de ses produits de dégradation déchlorés.....	18
Tableau 3 :	Temps de rétention des produits de dégradation retrouvés dans l'extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend® par recherche des masses (M et M-Cl) caractéristiques de la CLD avec de -1 Cl à -10 Cl.....	18
Tableau 4 :	Identification, temps de rétention (min), masses caractéristiques et transition de quantification des 14 produits de dégradation de la CLD retrouvés dans les extraits de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.....	20
Tableau 5 :	Teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et aires relatives des produits de dégradation dans l'andosol témoin non traité (contrôle) et dans l'andosol traité par ISCR/Daramend® à différents moments du traitement.....	29
Tableau 6 :	Teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et aires relatives des produits de dégradation dans le nitisol témoin non traité (contrôle) et le nitisol traité par ISCR/Daramend® à différents moments du traitement.....	33
Tableau 7 :	Teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et aires relatives des produits de dégradation dans le ferralsol témoin non traité (contrôle) et le ferralsol traité par ISCR/Daramend® à différents moments du traitement.....	36
Tableau 8 :	Toxicité relative de la CLD et certains de ses dérivés au regard de certains paramètres physiologiques mesurés sur mitochondries de rat (adapté de Soileau et Moreland, 1983).....	41
Tableau 9 :	Mesures physico-chimiques effectuées sur les éluats des trois sols témoins et des mêmes sols après le traitement ISCR.....	47
Tableau 10 :	Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats des sols témoins.....	49
Tableau 11 :	Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats des sols traités par ISCR.....	49
Tableau 12 :	Résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests plantes réalisés sur les sols témoins.....	50
Tableau 13 :	Résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests plantes réalisés sur les sols traités.....	50

Lexique

5b-monohydroCLD : perte d'un chlore en position 5b de la chlordécone (remplacé par un hydrogène)

AND: andosol

CLD : chlordécone

CLD13 : chlordécone marqué avec dix carbones ^{13}C à la place des dix carbones ^{12}C

dihydroCLD : perte de deux chlores de la chlordécone (remplacé par deux hydrogènes)

FRL : ferralsol

GC/MS : chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

ISCR : *in situ* chemical reduction

NIST : National Institute of Standards and Technology

NIT : nitisol

SIM : selected ion monitoring

SRM : selected reaction monitoring



1. Introduction

Les travaux de laboratoire consacrés à la traitabilité de sols antillais contaminés en chlordécone (CLD) ont montré l'efficacité du procédé d'*In Situ* Chemical Reduction (ISCR) avec l'amendement Daramend® (Dictor *et al.*, 2011). Les teneurs initiales en CLD du ferralsol et du nitisol étudiés sont diminuées d'au moins 71 %, celle de l'andosol de 20 %.

Ces résultats prometteurs laissent toutefois au moins deux questions en suspens : « en quoi est transformée la chlordécone ? » et « le traitement de remédiation a-t-il des effets négatifs sur les sols ? ».

Pour répondre à ces questions, des travaux ont été entrepris sur la problématique analytique, pour essayer d'identifier les produits de transformation générés, et sur la question de l'écotoxicité, pour mesurer les éventuels effets négatifs du traitement envers divers organismes vivants. Les réponses apportées à ces deux questions sont détaillées dans ce rapport.



2. Mise au point d'une méthode d'identification des produits de déchloration (- 1 Cl à - 10 Cl) de la chlordécone formés par *In Situ* Chemical Reduction (ISCR) avec Daramend®

2.1. EXPLOITATION DES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE

La littérature fait état de trois produits de transformation de la chlordécone (CLD), la monohydro-CLD (quatre isomères existent), la dihydro-CLD (seize isomères existent) et le chlordécol, observés dans différentes matrices minérales et biologiques (e.g. Borsetti et Roach, 1978 ; Carver et Griffith, 1979 ; Fariss *et al.*, 1980 ; Harless *et al.*, 1978). La phase de réduction physico-chimique par du fer zéro valent intervenant dans le procédé Daramend® est plus ou moins analogue à des réactions de déchloration réductrice engendrées par la vitamine B12 étudiées par Schrauzer et Katz (1978).

Ces auteurs ont provoqué la réduction de la CLD par un réducteur introduit en excès (NaBH_4 , 1-thioglycerol, 2,3-dimercaptopropanol ou l'acetoïne) dans le milieu. Un indène halogéné est formé. Sa présence s'explique par l'ouverture de la cage de « dihomocubane » pour former l'intermédiaire 4,7-methanoinden-8-one. Celui-ci va se fragmenter ensuite en différents composés de formule brute $\text{C}_9\text{Cl}_8\text{-nH}_n$ (avec $n = 3$ à 5) et en un organocobalamine résultant de la réaction de la vitamine B12 avec un des fragments de la CLD. Pour six composés formés, les auteurs donnent les fragments provoqués lors de l'ionisation en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Ces masses spécifiques ne sont pas retrouvées dans les extraits de sols traités par ISCR/Daramend®. Les mécanismes de réaction avec la vitamine B12 ne sont donc pas identiques à ceux induits par ISCR/Daramend®.

2.2. LES LIMITES DU MODE FULL-SCAN

L'identification des produits de dégradation est rendue très difficile par l'absence de standards et par le fait que la détection par GC/MS en impact électronique conduit à un spectre de masse assez fourni avec de nombreux fragments. L'utilisation en mode full-scan, mode de détection non sélective et non spécifique (fig. 1 à 3), ne permet pas d'atteindre la sensibilité requise pour la détection de ces composés à l'état de traces et dans des matrices complexes.

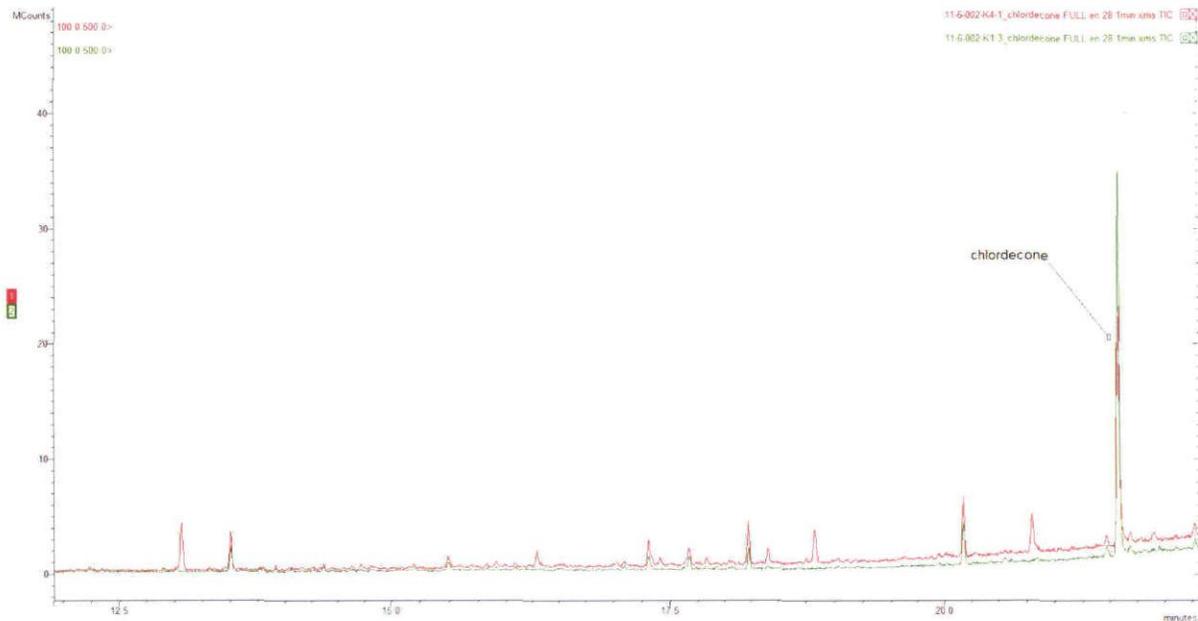


Figure 1 : Chromatogrammes en Full-Scan d'un sol AND non traité (en vert) et traité ISCR/Daramend® après six mois de traitement (en rouge).
abattement en CLD de 21 % ; quatre pics chromatographiques majeurs apparaissent uniquement dans le sol traité : trois non identifiés et un composé chloré.

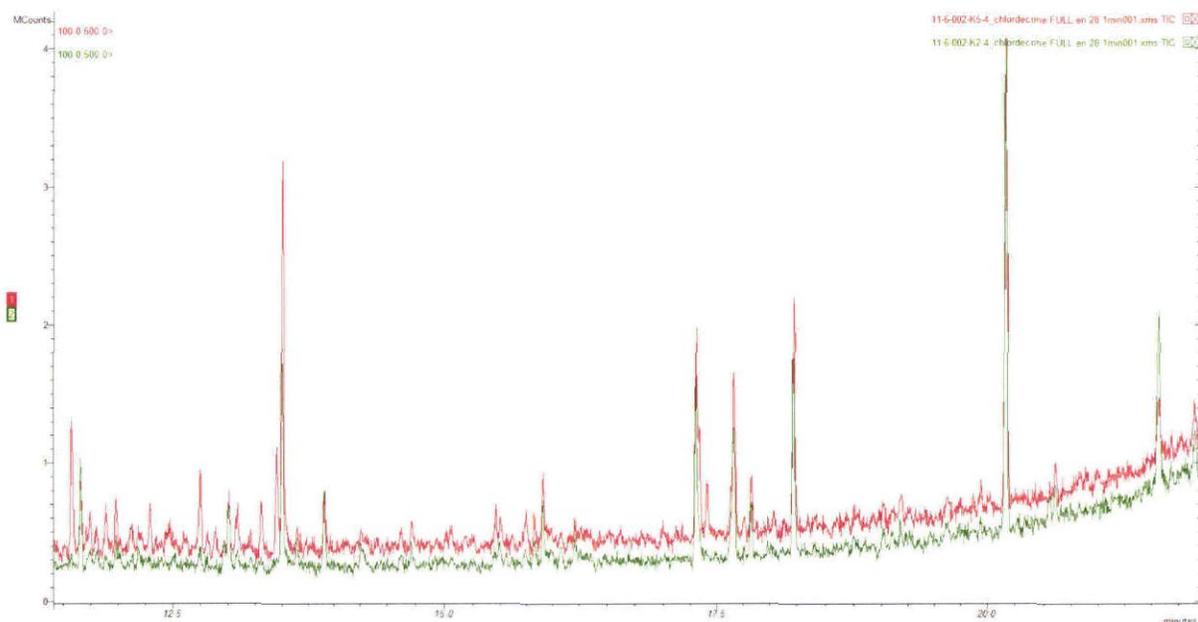


Figure 2 : Chromatogrammes en Full-Scan d'un sol NIT non traité (en vert) et traité ISCR/Daramend® après six mois de traitement (en rouge).
Abattement en CLD de 74 %. Aucun pic chromatographique majeur n'apparaît dans le sol traité.

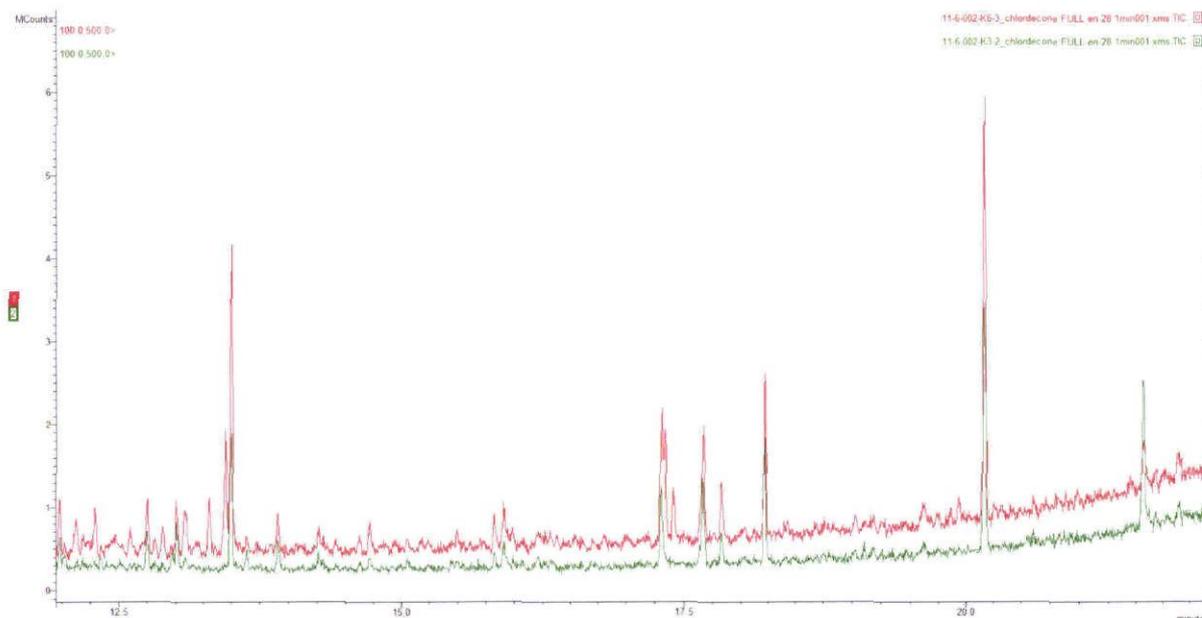


Figure 3 : Chromatogrammes en Full-Scan d'un sol FRL non traité (en vert) et traité Daramend® après 6 mois de traitement (en rouge). Abattement en CLD de 71 % ; aucun pic chromatographique majeur n'apparaît dans le sol traité.

Avec le mode de détection en full-scan, la plupart des spectres de masses des composés présents uniquement dans les sols traités ne sont pas exploitables puisque le bruit de fond est trop important. Seul le composé au temps de rétention 20,8 mn fournit un spectre de masse intéressant (fig. 4) puisque le composé fournit des masses isotopiques caractéristiques de la présence de chlore (de par sa distribution isotopique 75 % de ^{35}Cl et 25 % de ^{37}Cl).

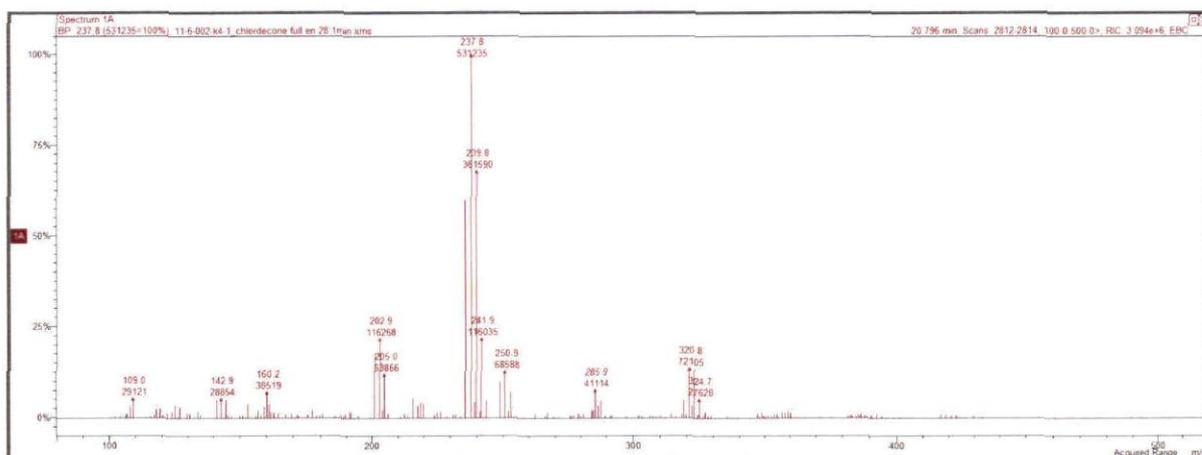


Figure 4 : Spectre de masse du composé identifié au temps 20,8 min dans l'extrait de sol AND traité par le procédé ISCR/Daramend®.

Cependant, ce mode de détection n'est pas suffisamment sensible et spécifique pour identifier d'autres composés.

2.3. IDENTIFICATION DE PRODUITS DE TRANSFORMATION EN COMBINANT DES FRAGMENTS CYCLOPENTADIÈNE CARACTÉRISTIQUES DE LA CHLORDÉCONE ET LES IONS MOLÉCULAIRES

La détection par spectrométrie de masse des produits d'intérêt requiert donc l'utilisation de modes spécifiques qui impliquent de connaître les ions caractéristiques à détecter. Suite à des échanges avec un chercheur de l'US/EPA, deux techniques permettant de connaître les ions caractéristiques des composés de dégradation de la CLD ont été mises en œuvre dans un extrait de sable dopé en CLD à 25 mg/kg, auquel a été ajouté 1 % (en masse) de sol agricole. Le sable a ensuite subi le procédé ISCR/Daramend®.

La première méthode consiste à rechercher des fragments cyclopentadiènes caractéristiques de la CLD (C_5Cl_6 avec m/z 270) et de ses produits de dégradations déchlorés ($C_5Cl_{6-x}H_x$; Harless *et al.*, 1978). Le tableau 1 montre l'existence de 14 produits de dégradation (5b-monohydroCLD compris) puisqu'il existe 14 pics chromatographiques différents présents seulement dans l'échantillon traité (temps de rétention en caractère gras). Ces fragments cyclopentadiènes sont confirmés en vérifiant le bon accord (± 15 %, tolérance de la directive 96/23/CE) entre le rapport théorique des abondances relatives des deux masses caractéristiques (logiciel NIST MS Search 2.0, isotope calculator) et celui mesuré dans les extraits.

Fragment cyclopentadiène	m/z caractéristiques	Temps de rétention (mn) des pics chromatographiques présents seulement dans l'échantillon traité (substance, lorsqu'elle est connue, ayant pu générer le fragment)
C_5Cl_6	272 + 274	20,4 (5b-monohydroCLD)
C_5HCl_5	238 + 240	18,3, 19,8, 20,4 (5b-monohydroCLD), 20,6
$C_5H_2Cl_4$	202 + 204	18,1, 18,3, 18,5, 18,9, 19,3, 19,8
$C_5H_3Cl_3$	168 + 170	17,0, 17,1, 18,0, 18,3, 18,9
$C_5H_4Cl_2$	134 + 136	12,9, 16,4, 16,5, 17,0
C_5H_5Cl	100 + 102	Aucun pic avec ce m/z caractéristique
C_6H_6	66	Aucun pic avec ce m/z caractéristique

Tableau 1 : Masses m/z des fragments cyclopentadiène caractéristiques de la CLD et temps de rétention (mn) des pics chromatographiques correspondants présents seulement dans l'échantillon de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

Un exemple de chromatogramme, obtenu en mode SIM (selected ion monitoring) avec la masse m/z 204, est illustré à la figure 5. La seconde méthode consiste à rechercher les masses correspondantes aux ions moléculaires du composé. Ces ions moléculaires étant généralement présents avec une abondance très faible, il est préférable de rechercher également les fragments qui fournissent une abondance plus importante et qui se rapproche le plus de la masse moléculaire du composé. La masse moléculaire avec une perte de chlore (M-Cl) sera donc également recherchée.

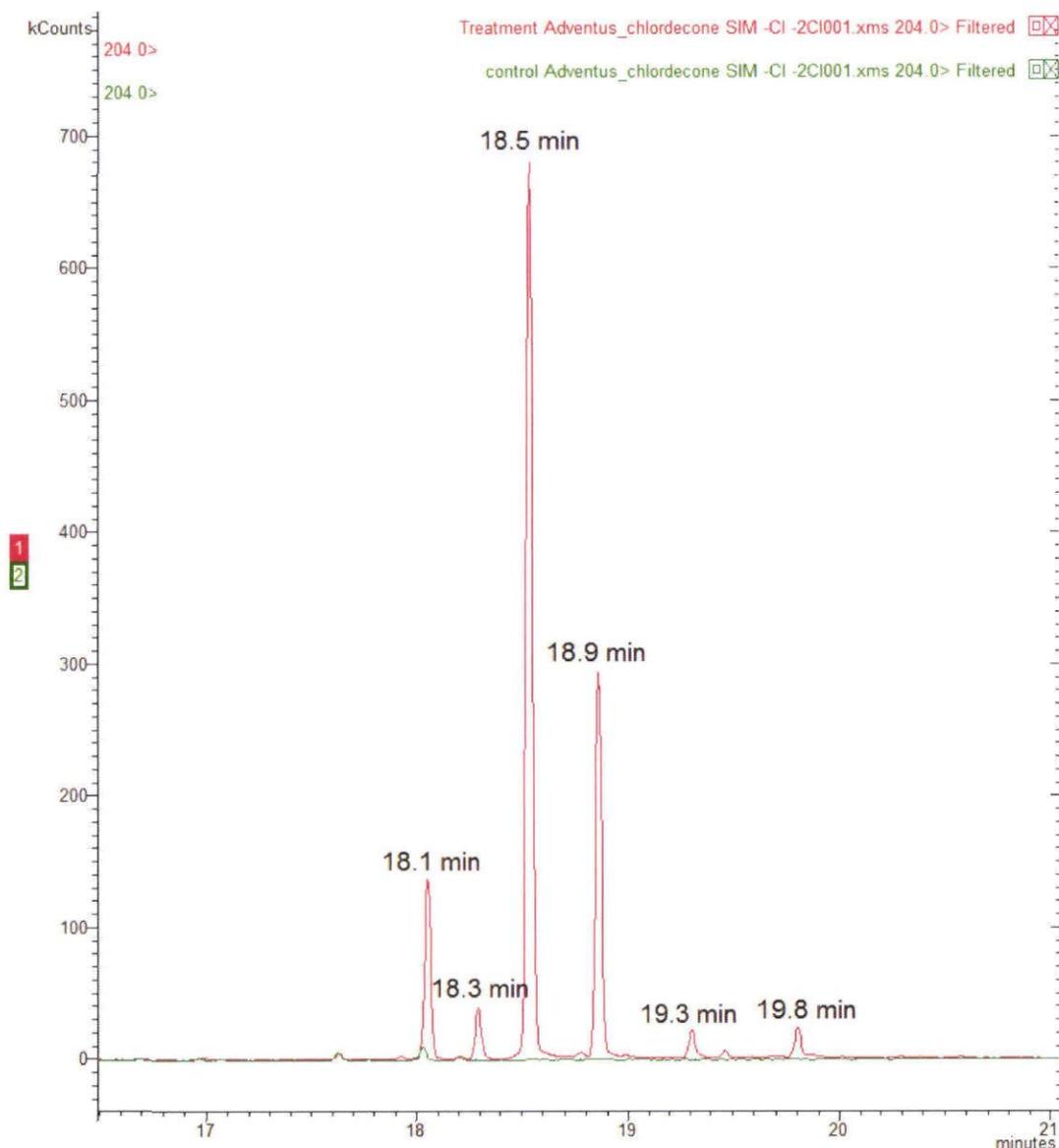


Figure 5 : Chromatogramme de sable dopé en CLD non traité (en vert) et traité par ISCR/Daramend® (en rouge) : présence de six pics chromatographiques avec la masse m/z 204 (caractéristique du fragment $C_5H_2Cl_4$) dans le sable traité.

Pour une meilleure sensibilité, ces recherches d'ions moléculaires (tab. 2) sont réalisées en SIM. L'application de la méthode basée sur la recherche des masses correspondantes aux ions moléculaires montre l'existence, dans l'extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®, de neuf produits de dégradation (5b-monohydroCLD compris) correspondant à neuf pics chromatographiques différents (tab. 3).

Compositions (nombre de perte de chlore)	Ions moléculaires [M] ⁺ ; m/z les 2 plus intenses	Ions moléculaires -1 Cl [M-Cl] ⁺ ; m/z les 2 plus intenses
C ₁₀ Cl ₁₀ O (CLD)	486 [M] ⁺ ; 490,492	451 [M] ⁺ ; 455,453
C ₁₀ HCl ₉ O (- 1 Cl)	452 ; 456,454	417 ; 421,419
C ₁₀ H ₂ Cl ₈ O (- 2 Cl)	418 ; 422,420	383 ; 385,387
C ₁₀ H ₃ Cl ₇ O (- 3 Cl)	384 ; 386,388	349 ; 351,353
C ₁₀ H ₄ Cl ₆ O (- 4 Cl)	350 ; 352,354	315 ; 317,319
C ₁₀ H ₅ Cl ₅ O (- 5 Cl)	316 ; 318,320	281 ; 283,281
C ₁₀ H ₆ Cl ₄ O (- 6 Cl)	282 ; 282,284	247 ; 247,249
C ₁₀ H ₇ Cl ₃ O (- 7 Cl)	248 ; 250,248	213 ; 213,215
C ₁₀ H ₈ Cl ₂ O (- 8 Cl)	214 ; 214,216	179 ; 179,181
C ₁₀ H ₉ ClO (- 9 Cl)	180 ; 180,182	145 (0Cl) ; 145
C ₁₀ H ₁₀ O (-10 Cl)	146; 146	-

Tableau 2 : Masses m/z des ions moléculaires [M]⁺ et des ions moléculaires -1 Cl de la CLD et de ses produits de dégradation déchlorés.

Perte de chlore	Temps de rétention (min)
-1 Cl (5b-monohydroCLD)	20,4
-2Cl (dihydroCLD)	19,8
-3Cl	18,5
-4Cl	18,1
-5Cl(1)	18
-5Cl(2)	17,1
-6Cl	17
-7Cl	16,5
-7Cl ?	16,4 (signal faible)

Tableau 3 : Temps de rétention des produits de dégradation retrouvés dans l'extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend[®] par recherche des masses (M et M-Cl) caractéristiques de la CLD avec de -1 Cl à -10 Cl.

Un exemple des chromatogrammes obtenus en mode SIM pour un composé avec perte de trois chlores est illustré en figure 6.

La synthèse des résultats des deux méthodes de recherche (fragments cyclopentadiène, tab.1, et masses correspondant aux ions moléculaires, tab. 3) fournit la liste (tab. 4) des produits de dégradations retrouvés uniquement dans les échantillons traités. À partir des spectres obtenus en full-scan (fig. 2 à 15), les composés sont détectés avec le mode SRM (selected reaction monitoring). Ce mode est plus spécifique que le mode SIM et correspond à la recherche de la transition entre l'ion précurseur et l'ion produit (après fragmentation).

Les composés inconnus sont ceux trouvés uniquement dans l'échantillon traité (par rapport au contrôle qui ne subit pas de traitement) à partir de la recherche des

fragments cyclopentadiènes caractéristiques de la CLD, et qui ne correspondrait peut être pas à des produits de dégradation de la CLD avec uniquement une perte de chlore (possibilité de cassure liaison carbone-carbone, perte de carbone et/ou chlore, ajout d'oxygène/hydrogène...).

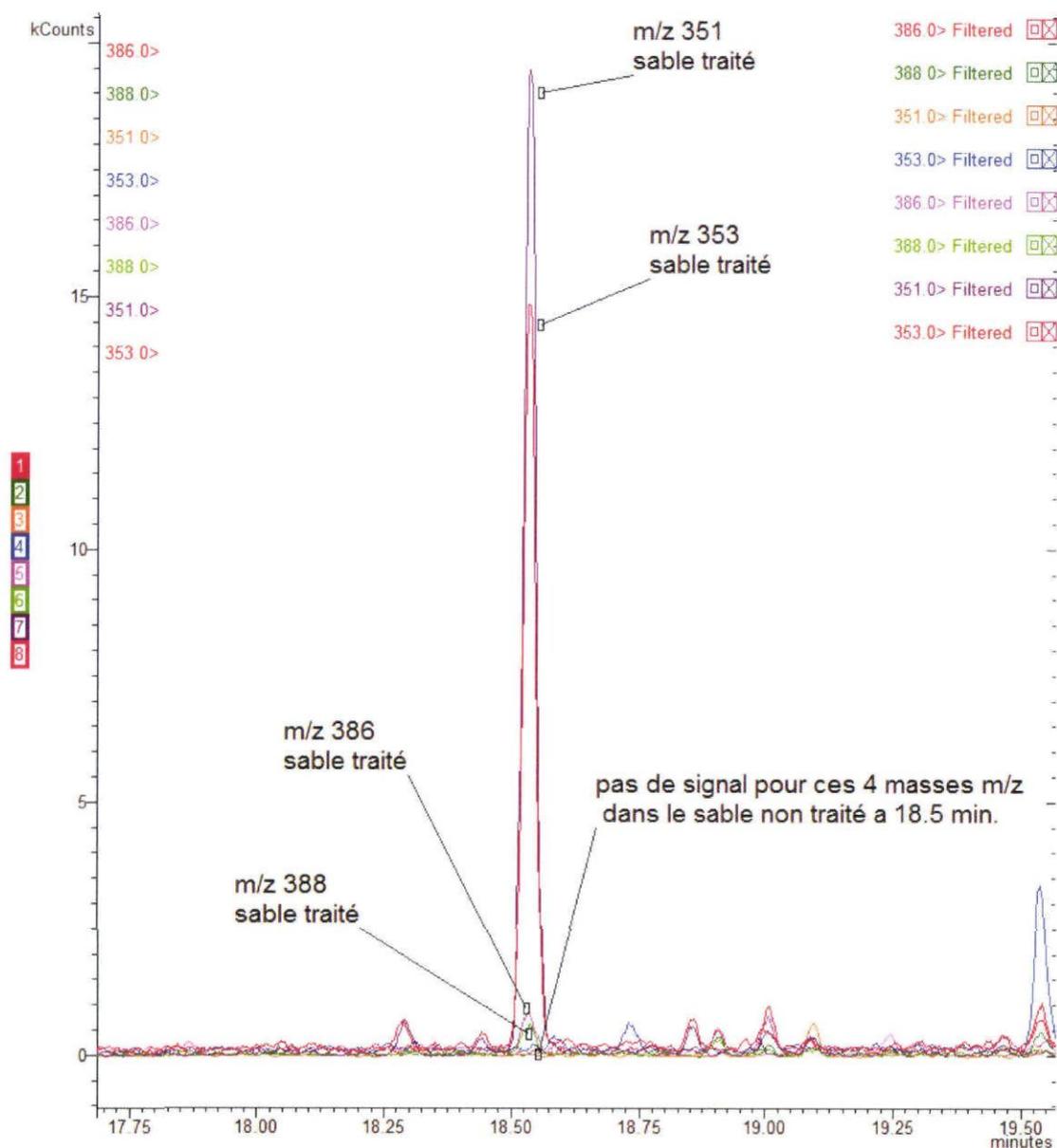


Figure 6 : Chromatogramme SIM de sable dopé en CLD non traité et traité Daramend® : présence de quatre pics chromatographiques à 18,5 min dans le sable traité correspondant aux masses spécifiques (cf. tab. 2) de la CLD – 3Cl : m/z 386, 388, 351 et 353.

Les spectres de masses obtenus en impact électronique pour chacun des produits du tableau 4 sont illustrés (fig. 7 à 13) ci-dessous.

Identification	Temps de rétention	Masses m/z caractéristiques du composé	Transition de quantification (mode SRM) (CIV 15V, dwell time 0,02 s) ion parent>ion produit
inconnu1	20,6	Cluster 1 : 236/238/240 ; Cluster 2 : 201/203/205	238 > 203
-1 Cl (position 5b)	20,4	Cluster 1 : 270/272/274 ; Cluster 2 : 319/321/323	272 > 237
-2 Cl (position 3a, 6)	19,8	Cluster 1 : 236/238/240 ; Cluster 2 : 201/203/205	238 > 203
inconnu2	19,3	Cluster 1 : 202/204/206	204 > 169
inconnu3	18,9	Cluster 1 : 202/204/206	204 > 169
-3Cl	18,5	Cluster 1 : 202/204/206 ; Cluster 2 : 167/169/171	204 > 169
inconnu4	18,3	Cluster 1 : 202/204/206 ; Cluster 2 : 168/170/172	204 > 169
-4Cl	18,1	Cluster 1 : 202/204/206 Cluster 2 : 168/170/172	204 > 169
-5Cl(1)	18	Cluster 1 : 168/170/172 ; Cluster 2 : 133/135	170 > 135
-5Cl(2)	17,1	Cluster 1 : 168/170/172 ; Cluster 2 : 133/135	170 > 135
-6Cl	17	Cluster 1 : 168/170/172 ; Cluster 2 : 134/136	170 > 135
-7Cl	16,5	Cluster 1 : 134/136; Cluster 2 : 183/185	134 > 99
-7Cl?	16,4	Cluster 1 : 134/136 (signal faible) Mass interfering	134 > 99
inconnu5	12,9	Cluster 1 : 134/136/138	134 > 99

Tableau 4 : Identification, temps de rétention (min), masses caractéristiques et transition de quantification des 14 produits de dégradation de la CLD retrouvés dans les extraits de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

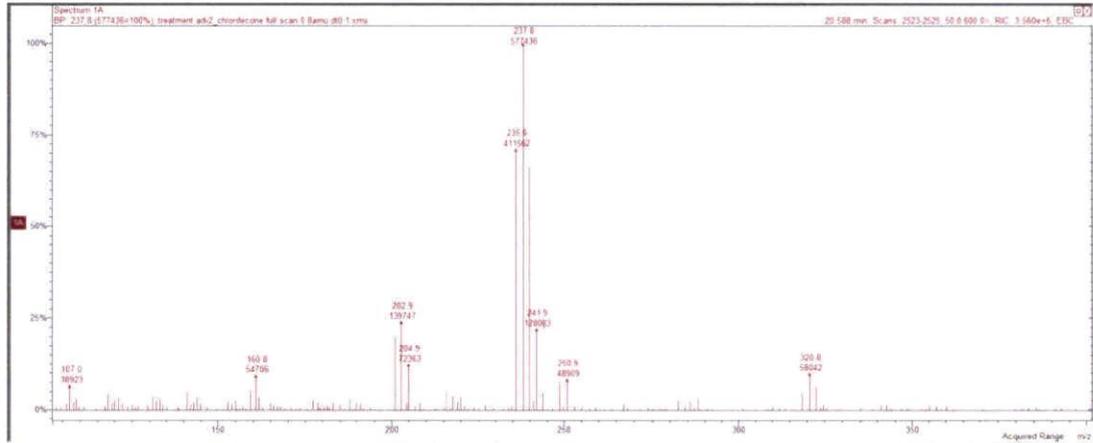


Figure 7 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 1 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

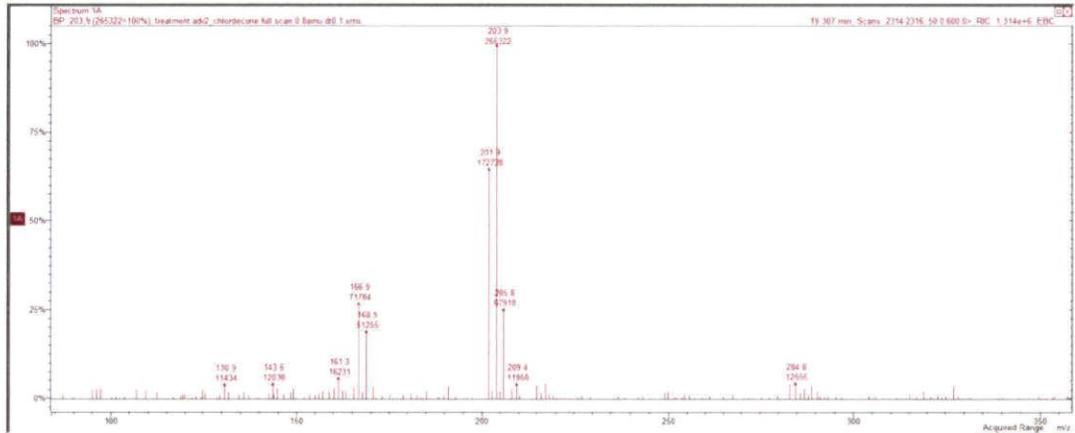


Figure 8 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 2 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

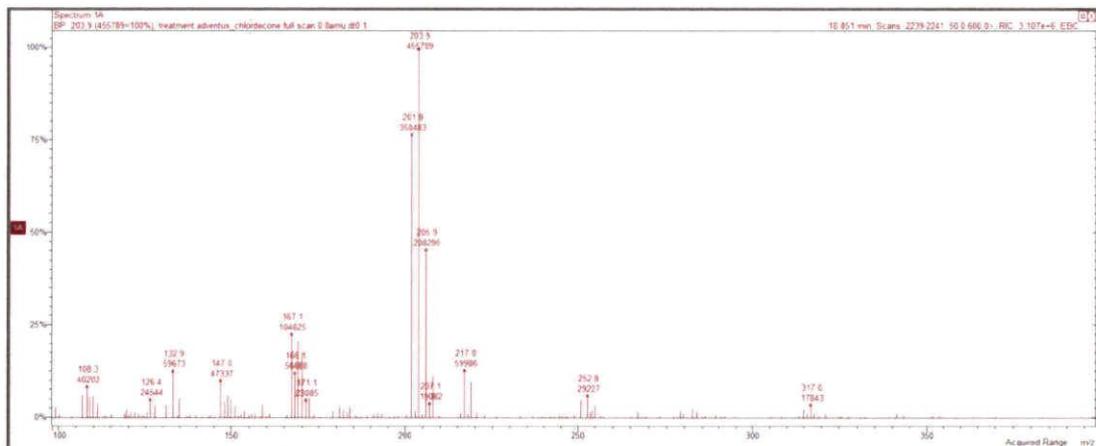


Figure 9 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 3 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

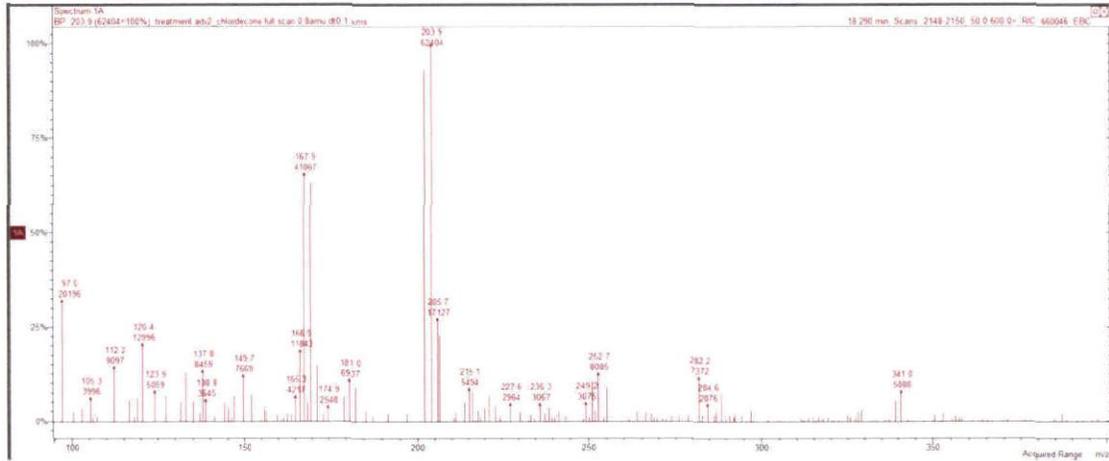


Figure 10 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 4 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

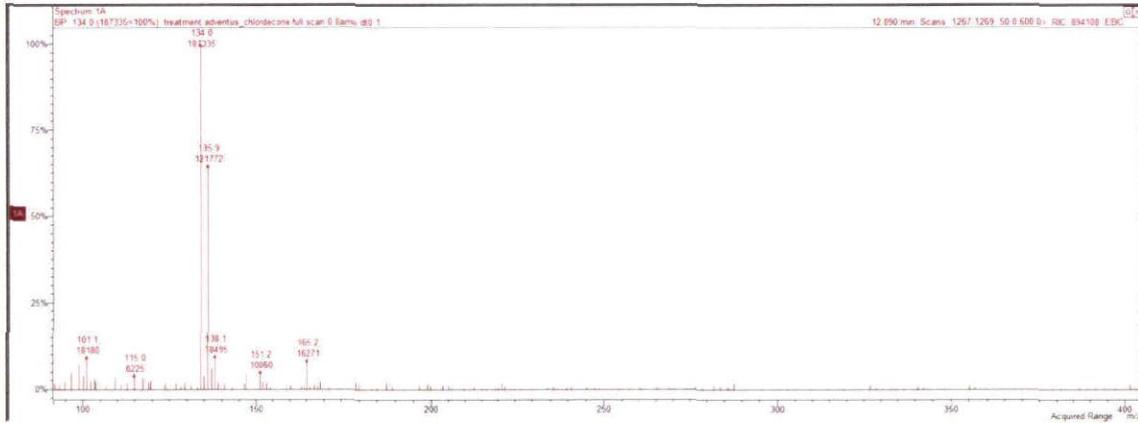


Figure 11 : Spectre de masse en full-scan du composé inconnu 5 dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

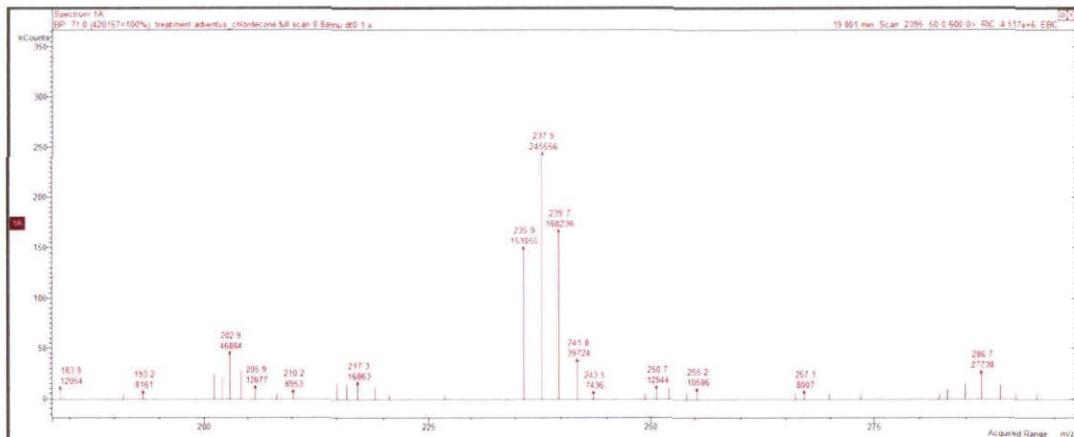


Figure 12 : Spectre de masse entre 200 et 300 (zoom d'un full-scan) de la dihydroCLD dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

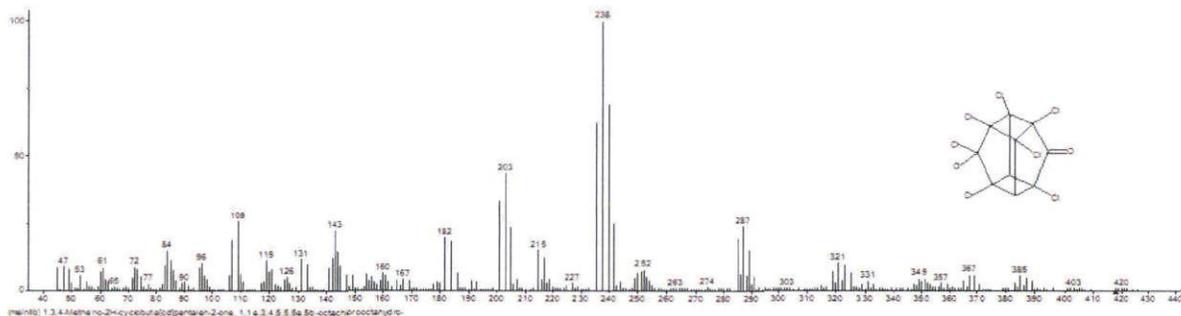


Figure 13 : Spectre de masse de référence de la dihydroCLD (bibliothèque NIST)

Le spectre de la dihydroCLD provenant de la bibliothèque NIST (fig. 13) présente les massifs isotopiques 238, 203 et 287 que l'on retrouve également dans l'extrait de sable dopé traité (fig. 12). Cependant, pour les massifs 203 et 287, les abondances relatives sont plus faibles dans l'extrait de sable dopé traité que dans le spectre de référence. La faible intensité du pic de la dihydroCLD de l'extrait est susceptible d'entraîner une légère modification de la distribution isotopique du massif et peut expliquer la différence entre les deux spectres de masse.

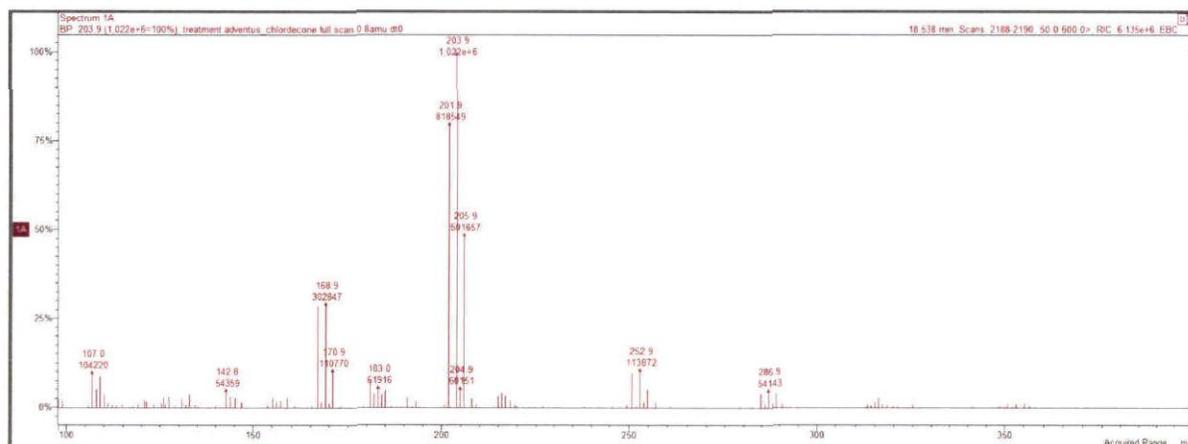


Figure 14 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – trois atomes de chlore (-3 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

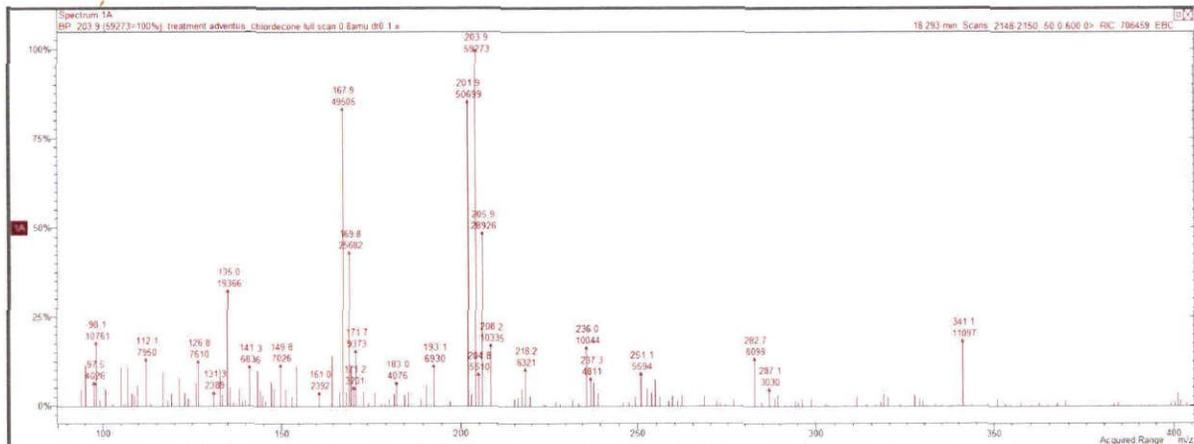


Figure 15 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – quatre atomes de chlore (-4 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

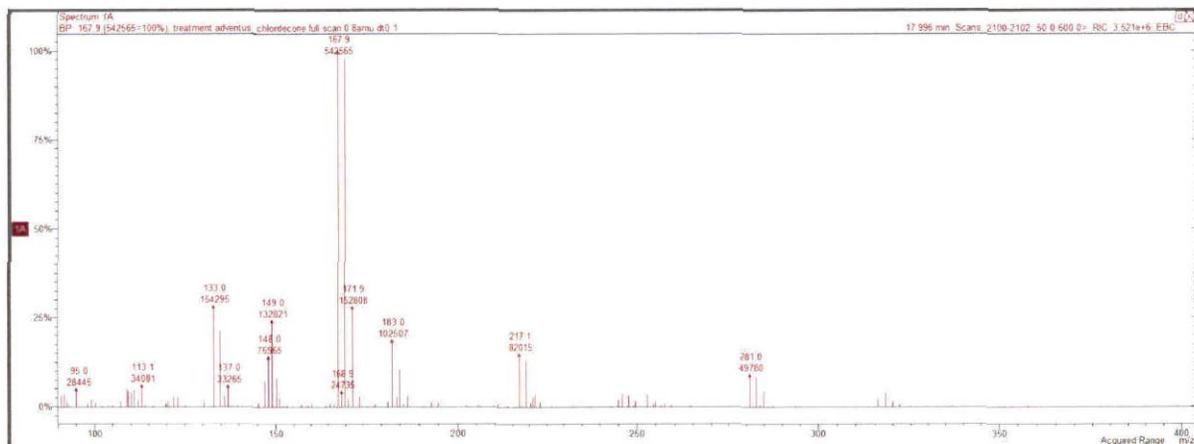


Figure 16 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – cinq atomes de chlore n° 1 (-5 Cl (1)) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

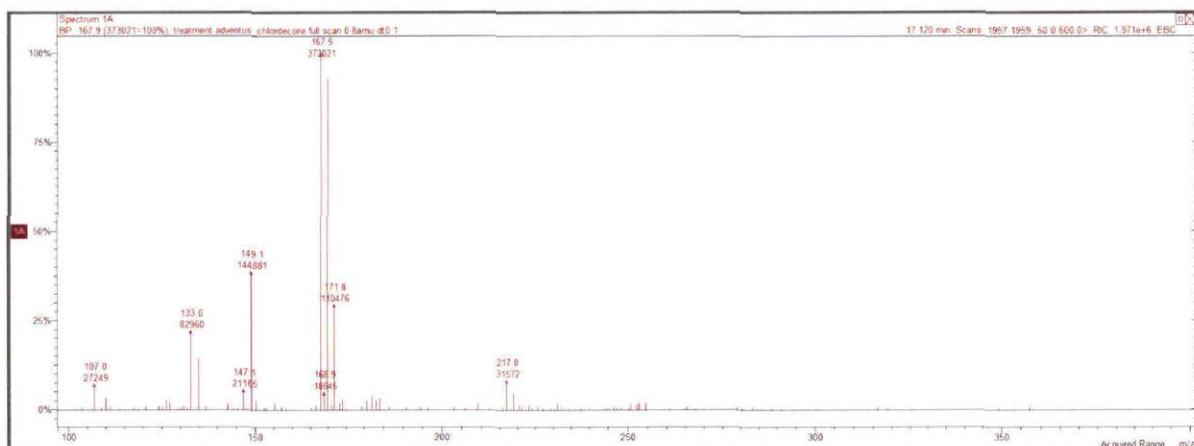


Figure 17 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – cinq atomes de chlore n° 2 (-5 Cl (2)) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

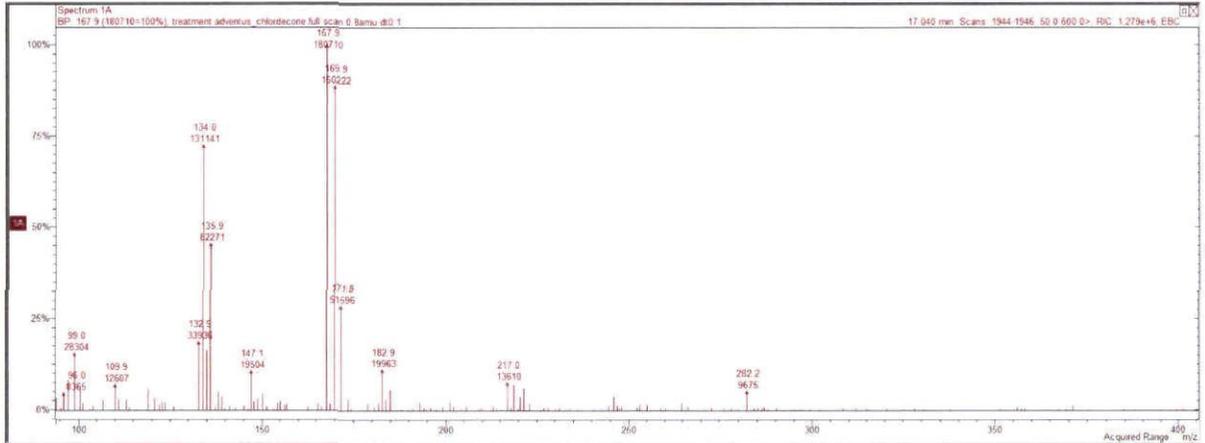


Figure 18 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – six atomes de chlore (-6 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

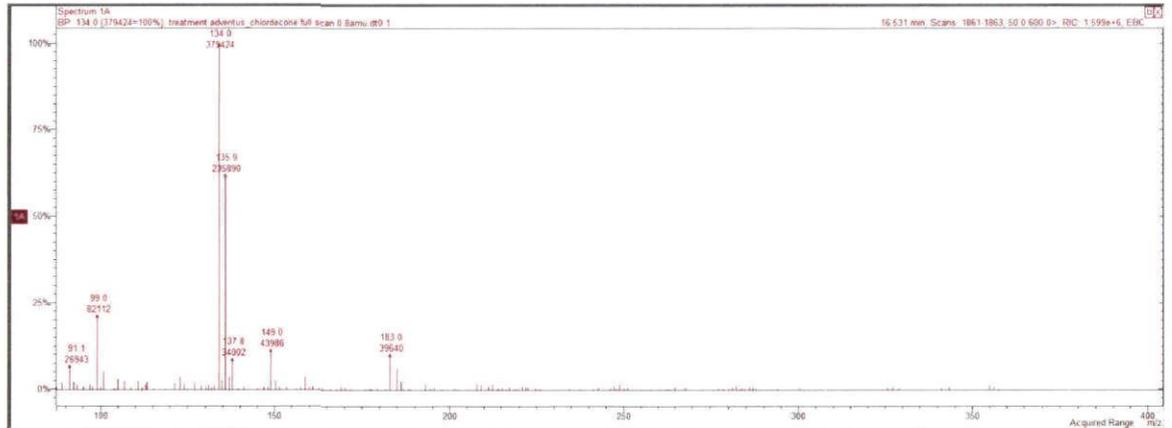


Figure 19 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – sept atomes de chlore (-7 Cl) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

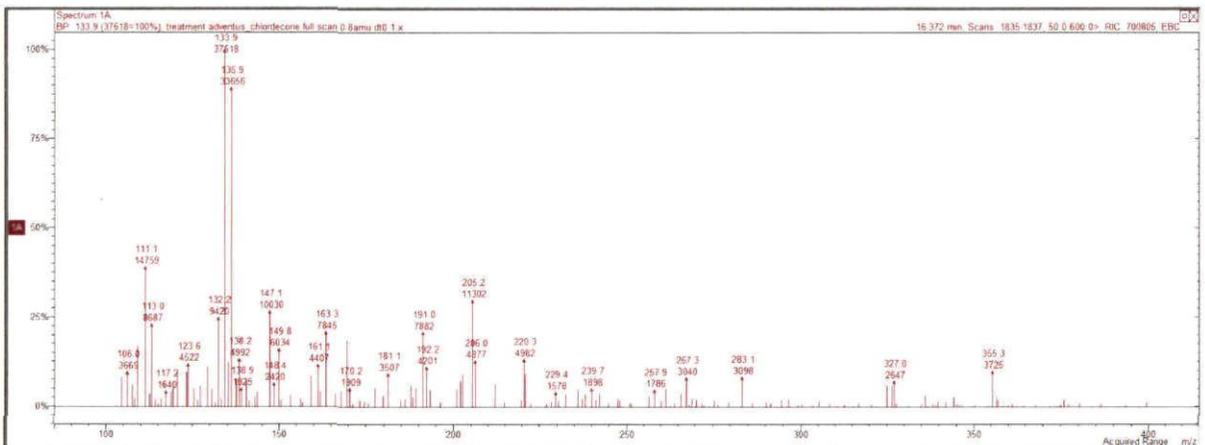


Figure 20 : Spectre de masse en full-scan de la CLD – sept atomes de chlore (?) (-7 Cl ?) dans un extrait de sable dopé traité par ISCR/Daramend®.

Le spectre de masse référence, disponible en bibliothèque NIST pour le chlordécol, est donné en figure 21. Les masses caractéristiques du chlordécol (m/z : 218, 220 et 222) ont été recherchées dans l'extrait de sable traité par le procédé ISCR/Daramend[®]. Il n'a jamais été détecté dans cet extrait de sable et ne correspond à aucun des composés inconnus. Le chlordécol a été détecté par contre dans les sols traités par ISCR ; son origine peut être double, soit une impureté initiale dans le produit technique appliqué en bananeraie, soit une formation à partir de la CLD suite à des mécanismes environnementaux physico-chimiques et/ou microbiologiques.

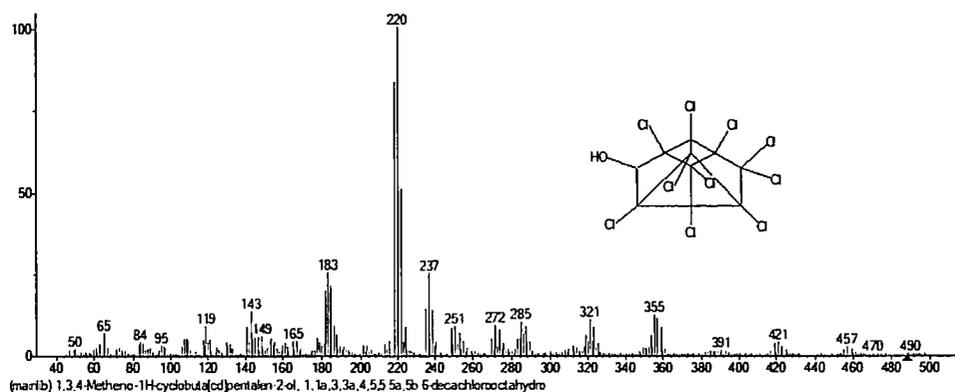


Figure 21 : Spectre de masse en full-scan du chlordécol (ou képol) (référence NIST).

3. Recherche des produits de déchloration dans les extraits de sol antillais traités par ISCR/Daramend®

3.1. MÉTHODOLOGIE

Cette recherche a été réalisée dans les trois sols (andosol, nitisol, ferralsol) à différents moments du traitement par le procédé ISCR/Daramend® : cycle 1, fin de phase anaérobie et fin de phase aérobie ; cycle 3, fin de phase anaérobie et fin de phase aérobie ; cycle 4, fin de phase anaérobie zone 1 et zone 2 (zones où ont été observées des colorations différentes suggérant des différences de conditions d'oxydo-réduction) ; cycle 6, fin de phase aérobie (= fin du traitement).

Les résultats seront comparés aux extraits des sols « contrôles » prélevés aux mêmes dates.

Les produits de dégradation ont été recherchés sur des triplicats indépendants pour certains échantillons afin d'évaluer la variabilité des résultats.

Aucun standard de ces produits de dégradation n'étant disponible, leur teneur dans les sols ne peut donc être quantifiée. Une comparaison semi-quantitative entre sols et temps de traitement peut toutefois être réalisée à partir de l'aire relative des pics chromatographiques. Ces aires relatives de pics chromatographiques sont corrigées pour prendre en compte : i) la dilution de la matière exogène ajoutée, ii) le taux d'humidité du sol, iii) la prise d'essai, iv) le rendement de récupération du traceur d'extraction, et v) la quantité de sol extraite selon l'équation (1).

$$(1) \text{ Aire relative} = \frac{\text{Aire}_{\text{composé}} \times F_s \times V \times F \times F_{\text{dil}}}{T \times m \times (1 - AM) \times (1 - TH)}$$

avec :

- Aire_{composé} : aire du pic chromatographique du composé,
- F_s : rapport, pour l'étalon interne CLD¹³ (10 carbones de la CLD marqués ¹³C) ajouté à l'extrait de sol avant l'injection en GC, entre la concentration ajoutée et l'aire du pic mesurée :

$$F_s = \frac{\text{concentration en } \mu\text{g.l}^{-1} \text{ de la CLD13 ajoutée dans l'extrait}}{\text{aire CLD13 retrouvée}}$$

- V : volume final de l'extrait (en ml),
- F : rapport entre la masse totale d'extrait de sol et la masse utilisée pour l'analyse (10 car fractionnement de l'extrait au 1/10^e : 1 ml prélevé sur les 10 ml de l'extrait à l'ASE) :

$$F = \frac{\text{masse de l'extrait ASE (g)}}{\text{masse de l'extrait ASE utilisé (g)}}$$

- T : taux de récupération du traceur transnonachlore ajouté avant l'extraction,
- m : masse de sol extrait (g) séché à 40 °C,
- AM : rapport entre la masse d'amendement ajouté et la masse de sol (poids sec/poids sec),
- TH : taux d'humidité résiduelle du sol extrait : différence entre poids à 40 °C et 105 °C,
- Fdil = dilution de l'extrait final avant injection.

3.2. ANDOSOL

Les teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et les aires relatives des produits de dégradation retrouvées dans les andosols contrôles et traités sont présentés dans le tableau 5.

Quelques exemples de chromatogrammes (obtenus en mode SRM) sont illustrés en figures 22 et 23. Les temps de rétention ne correspondent pas exactement aux temps de rétention du tableau 4, car une maintenance de l'appareil réalisée entre les deux phases des travaux s'est soldée par un raccourcissement de la colonne et donc une diminution des temps de rétention des composés.

L'andosol non traité ne contient que deux des quatorze produits de transformation identifiés à partir des expérimentations sur sable dopé, la 5b-monohydroCLD, et l'inconnu 1 dont l'aire des pics est toutefois environ cinq fois plus faible que celle de la 5b-monohydroCLD. La 5b-monohydroCLD et l'inconnu 1 dans l'andosol témoin peuvent avoir deux origines : leur présence initiale en impuretés du produit technique (curlone) utilisé en traitement du charençon, ou leur formation in situ à partir de la CLD. Les données disponibles (par analyse de la curlone) au moment de la rédaction de ce rapport ne permettent pas de privilégier une des deux hypothèses.

Par contre, le traitement ISCR/Daramend[®] engendre l'apparition de onze des quatorze produits de transformation identifiés à partir des expérimentations sur sable dopé, y compris le produit dont le spectre de masse suggère qu'il s'agisse de la CLD – 7Cl. Les mesures des aires relatives sur des triplicats de sols extraits indépendamment montrent une variabilité comprise entre 3 et 10 % pour la majorité des substances et des temps de traitement pris en compte. Les observations qu'on peut tirer de ces observations sont donc robustes.

Phase du traitement Ana = anaérobie Aéro = aérobie Cn = numéro du cycle Z = zone	Condition du sol	CLD (mg/kg)	5B-monohydroCLD (mg/kg)	Aires relatives des composés (écart-type, n=3)														
				chlordécone	Inconnu 1	5b-monohydroCLD	dihydroCLD	Inconnu 2	Inconnu 3	-3Cl	Inconnu 4	-4Cl	-5Cl (1)	-5Cl (2)	-6Cl	-7Cl	-7Cl?	Inconnu 5
Fin Ana C1	Contrôle	14,7	0,21	124 747	49	196	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C1	Contrôle	18,7	0,22	98 595	73	364	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C3	Contrôle	15,9	0,22	109 676	109	412	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C3	Contrôle	10,8	0,11	77 409	26	112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C4	Contrôle	11,3	0,11	91 887 (7 986)	94 (11)	842 (212)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C6	Contrôle	14,3	0,17	69 731	56	706	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C1	ISCR	13,2	0,17	66 220	5 520	114	87	68	12	54	0	0	20	0	0	0	0	0
Fin Aéro C1	ISCR	15,5	0,25	73 285	8 132	201	221	202	25	127	0	0	90	0	0	0	0	0
Fin Ana C3	ISCR	12,4	0,11	78 341	9 582	148	293	166	53	297	26	43	78	88	0	0	25	0
Fin Aéro C3	ISCR	10,5	0,05	60 181	7 343	132	351	195	61	326	39	49	74	109	0	0	27	0
Fin Ana C4, Z1	ISCR	8,3	0,05	48 553 (3 074)	6 115 (299)	113 (11)	295 (14)	185 (12)	49 (6)	382 (29)	31 (2)	28 (10)	55 (3)	110 (11)	0	0	25 (2)	0
Fin Ana C4, Z2	ISCR	8,3	0,05	49 179 (3 766)	6 360 (476)	123 (8)	321 (9)	181 (8)	57 (3)	408 (20)	32 (4)	40 (3)	67 (8)	124 (11)	0	0	33 (2)	0
Fin Aéro C6	ISCR	11,2	0,08	72 153	19 469	806	1 700	454	175	1 215	49	84	54	51	0	0	10	0

Tableau 5 : Teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et aires relatives des produits de dégradation dans l'andosol témoin non traité (contrôle) et dans l'andosol traité par ISCR/Daramend® à différents moments du traitement.

Les effets les plus remarquables du traitement ISCR/Daramend® sur l'andosol sont :

- la formation très significative de l'inconnu 1, dont l'aire de pic augmente d'un facteur moyen de 109 par rapport aux traces présentes dans l'andosol non traité ;
- la non-accumulation de cet inconnu 1, dont l'aire relative de pic plafonne au cycle 3 et diminue ensuite légèrement avant de remonter très nettement à la fin du cycle 6 ;
- l'apparition de la dihydroCLD, sans tendance nette à l'accumulation, avec une aire de pic assez stable aux cycles 3 et 4 (avant de remonter très nettement à la fin du cycle 6) et la plus forte de tous les produits formés hormis l'inconnu 1 ;
- l'apparition des inconnus 2 et 3 et de la CLD - 3 Cl, avec une aire de pic assez stable aux cycles 3 et 4, avant de remonter très nettement à la fin du cycle 6 ;
- l'apparition de l'inconnu 4 et de la CLD - 4, - 5 et - 7 Cl à partir du cycle 3, avec une aire maximale (très faible par rapport à celles de l'inconnu 1) au cycle 4 ou au cycle 6.

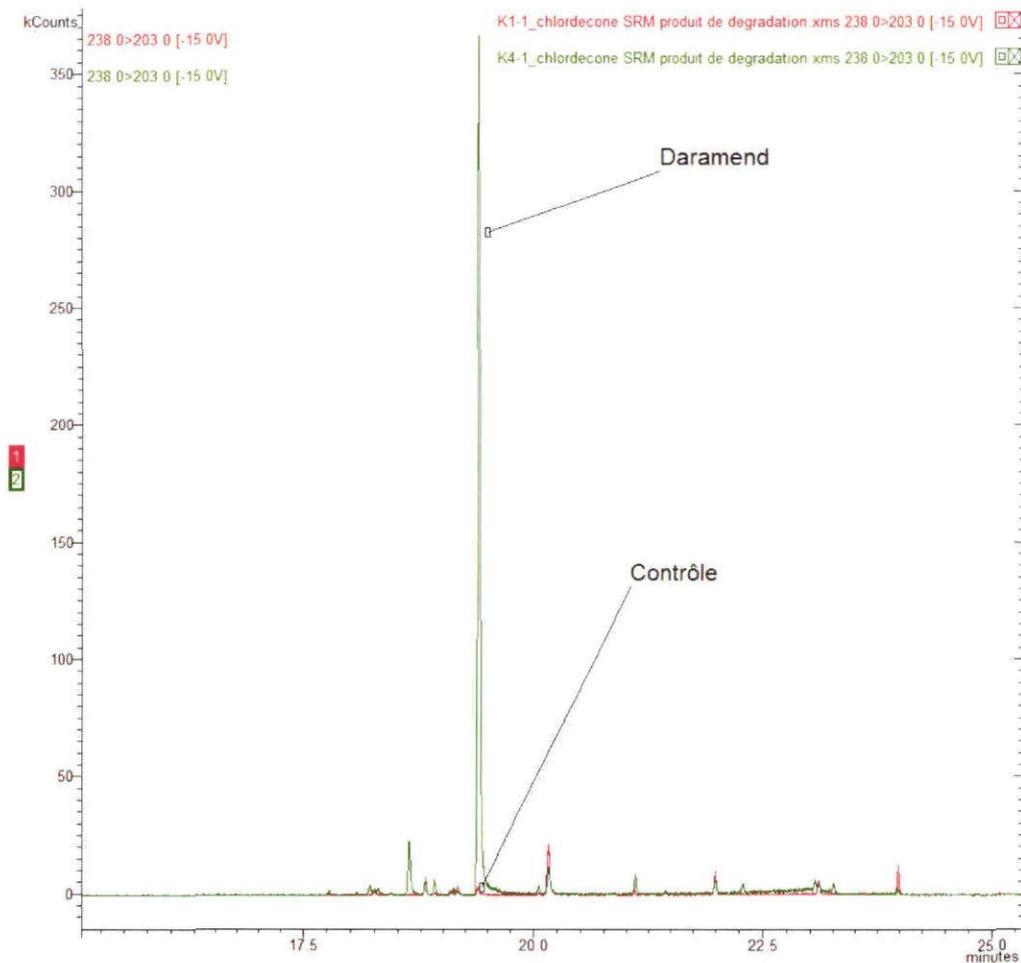


Figure 22 : Chromatogramme de l'andosol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence majoritaire du composé inconnu 1 (19,4 min).

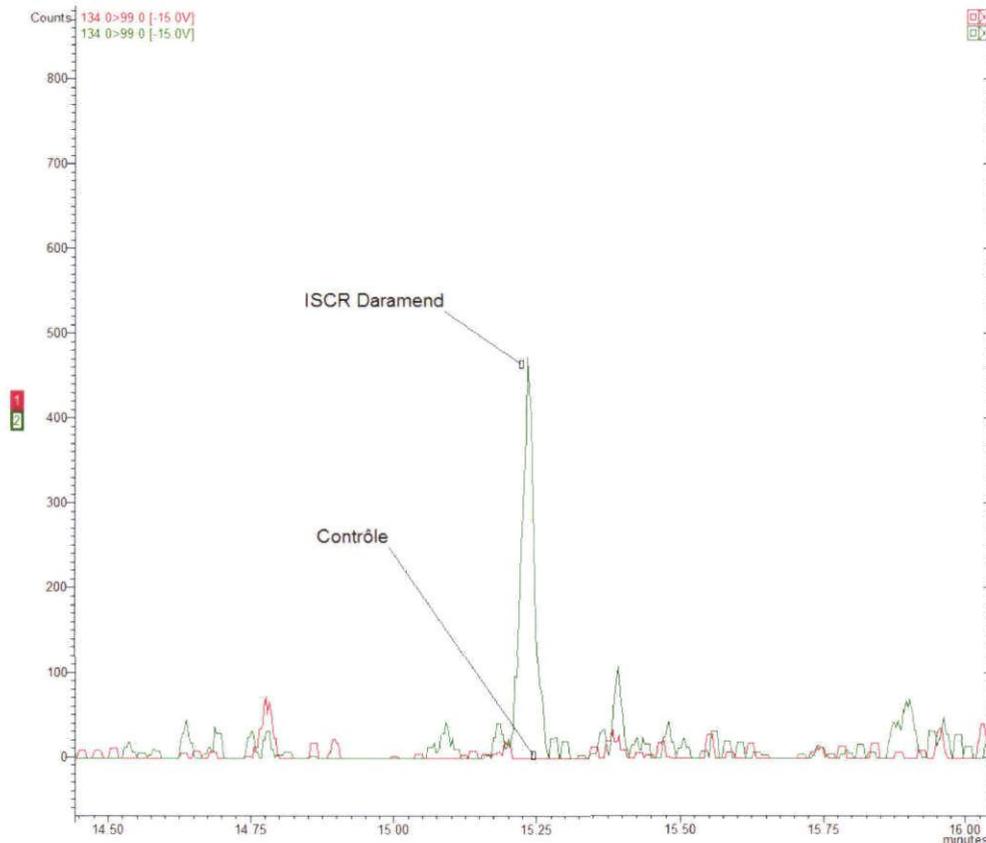


Figure 23 : Chromatogramme de l'andosol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence à 15,25 min (noter la différence d'échelle de l'ordonnée par rapport à la figure précédente) du composé dérivé de la CLD identifié comme probablement avec - 7Cl.

Les produits non observés (CLD – 6Cl, une des CLD – 7Cl et inconnu 5) peuvent ne pas avoir été formés, ou l'avoir été mais à des teneurs trop faibles pour être détectés. Ces trois composés non détectés n'est pas un problème car, si on accepte l'hypothèse d'une relation relativement constante entre l'aire des pics et la concentration du produit correspondant malgré différents niveaux de chloration, une aire relative de 10 ne représente que 0,01 % de la masse de CLD initialement présente.

3.3. NITISOL

Les teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et les aires relatives des produits de dégradation retrouvées dans les nitisols contrôles et traités ISCR/Daramend® sont présentés dans le tableau 6.

Quelques exemples de chromatogrammes (obtenus en mode SRM) sont illustrés en figures 24 et 25.

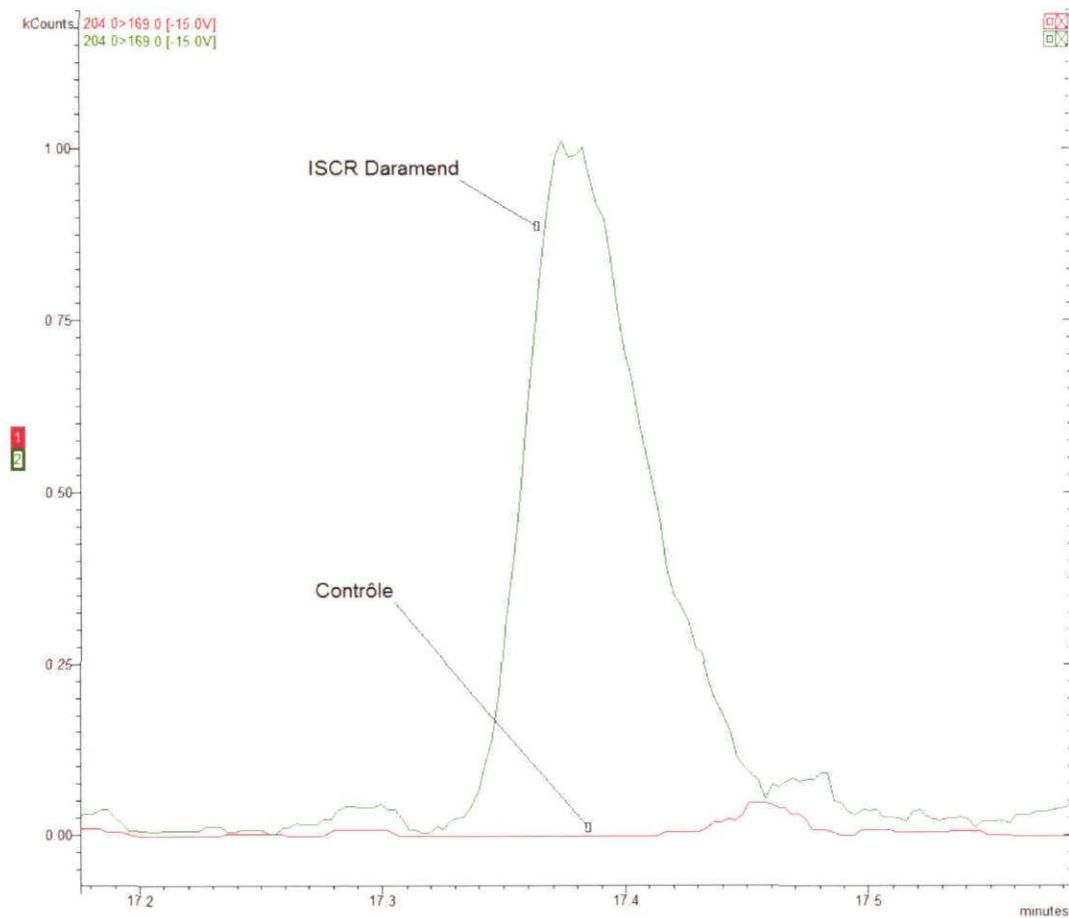


Figure 24 : Chromatogramme du nitrosol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence du composé dérivé de la CLD avec -3Cl (17,4 min).

Le nitrosol non traité ne contient que deux des quatorze produits de transformation identifiés à partir des expérimentations sur sable dopé, la 5b-monohydroCLD, et l'inconnu 1 dont l'aire des pics est entre 3 à 6 fois plus faible que celle de la 5b-monohydroCLD. Les hypothèses émises sur l'origine de la présence de ces deux dérivés dans l'andosol non traité sont également valables ici.

Phase du traitement Ana = anaérobie Aéro = aérobie Cn = numéro du cycle Z = zone	Condition du sol	CLD (mg/kg)	5B-monohydroCLD (mg/kg)	Aires relatives des composés (écart-type, n=3)														
				chloroacéto	Inconnu 1	5b-monohydroCLD	dihydroCLD	Inconnu 2	Inconnu 3	-3Cl	Inconnu 4	-4Cl	-5Cl (1)	-5Cl (2)	-6Cl	-7Cl	-7Cl?	Inconnu 5
Fin Ana C1	Contrôle	1,24	<0,05	5 625	12	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C1	Contrôle	1,62	<0,05	8 570	16	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C3	Contrôle	1,39	<0,05	8 654	12	68	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C3	Contrôle	0,77	<0,05	11 624	0	81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C4	Contrôle	0,93	<0,05	7 599	0	177	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C6	Contrôle	1,24	<0,05	12 442	0	249	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C1	ISCR	0,60	<0,05	3 155	1 025	41	282	62	36	157	14	0	94	0	0	0	51	0
Fin Aéro C1	ISCR	1,30	<0,05	6 842	2 166	173	558	101	77	474	25	19	157	15	0	0	37	0
Fin Ana C3	ISCR	0,55	<0,05	2 872	1 558	67	681	138	109	567	60	28	63	46	0	0	140	0
Fin Aéro C3	ISCR	0,31	<0,05	4 303	1 767	126	486	90	78	467	0	0	142	37	0	0	117	0
Fin Ana C4, Z1	ISCR	0,28	<0,05	1 640	858	0	320	64	17	273	0	0	46	13	0	0	151	0
Fin Ana C4, Z2	ISCR	0,30	<0,05	1 809	993	0	388	49	0	319	0	0	20	19	0	0	172	0
Fin Aéro C6	ISCR	0,32	<0,05	1809	880	61	316	21	0	172	0	0	26	0	0	0	49	0

Tableau 6 : Teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et aires relatives des produits de dégradation dans le nitisol témoin non traité (contrôle) et le nitisol traité par ISCR/Daramend® à différents moments du traitement.

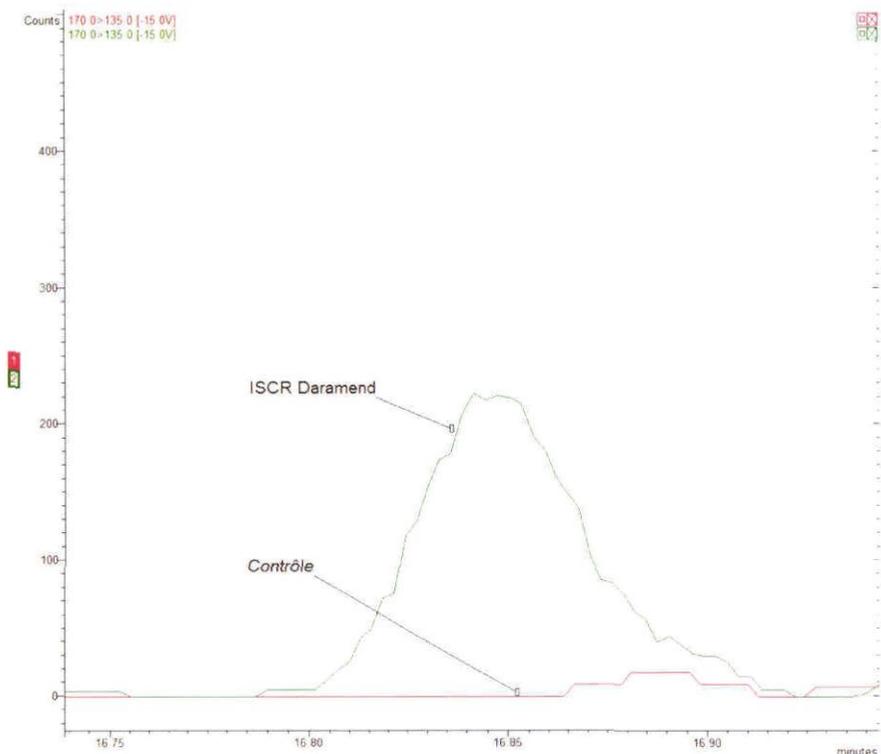


Figure 25 : Chromatogramme du nitisol contrôle (rouge) et traité ISCR/Daramend® (vert) en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence du composé dérivé de la CLD avec -5Cl (16,85 min). Présence de deux « nouveaux » pics (17,0 et 17,1 min) par rapport ceux identifiés lors de la recherche des produits de dégradation dans le sable.

Le traitement ISCR/Daramend® engendre, tout comme dans l'andosol, l'apparition de onze des quatorze produits de transformation identifiés à partir des expérimentations sur sable dopé, y compris le produit dont le spectre de masse suggère qu'il s'agisse de la CLD – 7Cl. La variabilité des aires relatives sur des triplicats de sols extraits indépendamment est comprise entre 10 et 30 % pour la majorité des substances et des temps de traitement pris en compte, ce qui confère une assez bonne robustesse aux observations.

Les effets les plus remarquables du traitement ISCR/Daramend® sur le nitisol sont :

- la formation très significative de l'inconnu 1, dont l'aire de pic augmente d'un facteur moyen de 204 par rapport aux traces présentes dans le nitisol non traité ; l'aire relative du pic diminue d'un facteur 2 à la fin du cycle 4 par rapport aux cycles 1 à 3, et va dans le sens de l'hypothèse d'un produit intermédiaire qui est ultérieurement transformé en d'autres sous-produits secondaires ;
- l'apparition de la dihydroCLD, sans tendance à l'accumulation, avec une aire de pic assez stable aux cycles 3 et 4, et la plus forte de tous les produits formés hormis l'inconnu 1 et la CLD – 3 Cl ;

- l'apparition des inconnus 2 et 3 et de la CLD - 3Cl, sans accumulation de ces produits, qui disparaissent quasi complètement à la fin du cycle 4 ;
- l'apparition fugace, seulement au cycle 1, de l'inconnu 4 et de la CLD - 4 ;
- la formation de CLD - 5 et - 7 Cl dès le cycle 1, avec une aire maximale (très faible par rapport à celles de l'inconnu 1) aux cycles 3 et 4 et une quasi disparition à la fin du cycle 6.

Les hypothèses explicatives de l'absence de la CLD - 6 Cl, d'une des CLD - 7Cl, et de l'inconnu 5 évoquées pour l'andosol restent valables pour le nitisol. Un poids plus important peut toutefois être donné à la possibilité de formation de ces produits à des teneurs trop faibles pour être détectées, vu que la teneur initiale en CLD du nitisol est 12 fois plus faible que celle de l'andosol.

3.4. FERRALSOL

Les teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et les aires relatives des produits de dégradation retrouvées dans le ferralsol contrôle et traités ISCR/Daramend[®] sont présentés dans le tableau 7.

Un exemple de chromatogramme (obtenu en mode SRM) est illustré en figure 26.

Le ferralsol non traité ne contient qu'un seul des quatorze produits de transformation identifiés à partir des expérimentations sur sable dopé, la 5bhydroCLD. Par contre, tout comme dans le nitisol et l'andosol, le traitement ISCR/Daramend[®] engendre l'apparition de onze des quatorze produits de transformation identifiés à partir des expérimentations sur sable dopé, y compris celui susceptible d'être de la CLD - 7Cl. Les aires relatives sur des triplicats de sols extraits indépendamment varient entre elles de 20 à 40 % pour la majorité des substances et des temps de traitement pris en compte.

Les effets les plus remarquables du traitement ISCR - Daramend[®] sur le ferralsol, quasi identiques à ceux observés pour le nitisol, sont :

- la prépondérance de l'inconnu 1, non détecté dans les témoins ; l'aire relative du pic diminue d'environ 50 % à la fin du cycle 4 par rapport à l'aire maximale observée au cycle 3 ;
- l'apparition de la dihydroCLD, sans tendance à l'accumulation, avec une aire de pic assez stable aux cycles 3 et 4, et la plus forte de tous les produits formés hormis l'inconnu 1 et la CLD - 3 Cl ;
- l'apparition des inconnus 2 et 3 et de la CLD - 3Cl, sans accumulation de ces produits ;

Phase du traitement Ana = anaérobie Aéro = aérobie Cn = numéro du cycle Z = zone	Condition du sol	CLD (mg/kg)	5B-monohydroCLD (mg/kg)	Aires relatives des composés (écart-type, n=3)														
				chlordecone	Inconnu 1	5b-monohydroCLD	dihydroCLD	Inconnu 2	Inconnu 3	-3Cl	Inconnu 4	-4Cl	-5Cl (1)	-5Cl (2)	-6Cl	-7Cl	-7Cl?	Inconnu 5
Fin Ana C1	Contrôle	2,07	<0,05	12 518	0	56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C1	Contrôle	2,41	<0,05	20 373	0	138	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C3	Contrôle	3,12	<0,05	17 919	0	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C3	Contrôle	1,81	<0,05	4 728	0	58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C4	Contrôle	1,76	<0,05	14 365	0	304	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Aéro C6	Contrôle	2,60	<0,05	13 895	0	278	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fin Ana C1	ISCR	0,90	<0,05	4 551	939	58	184	0	0	155	0	0	34	0	0	0	32	0
Fin Aéro C1	ISCR	0,74	<0,05	3 170	1 446	95	599	99	84	333	19	18	131	0	0	0	32	0
Fin Ana C3	ISCR	1,36	<0,05	8 076	3 064	144	691	111	88	566	26	22	76	39	0	0	69	0
Fin Aéro C3	ISCR	0,83	<0,05	2 766	1 610	0	924	96	120	698	37	0	138	41	0	0	162	0
Fin Ana C4, Z1	ISCR	0,79	<0,05	4 544	1 556	35	399	52	0	444	0	0	0	21	0	0	217	0
Fin Ana C4, Z2	ISCR	0,89	<0,05	5 155	1 946	88	523	90	52	525	0	0	19	0	0	0	134	0
Fin Aéro C6	ISCR	0,76	<0,05	4 627	1 124	0	139	18	0	325	0	0	18	0	0	0	103	0

Tableau 7 : Teneurs en CLD et 5b-monohydroCLD et aires relatives des produits de dégradation dans le ferralsol témoin non traité (contrôle) et le ferralsol traité par ISCR/Daramend[®] à différents moments du traitement.

- l'apparition fugace, seulement aux cycles 1 et 3, de l'inconnu 4 et de la CLD – 4 ;
- la formation de CLD - 5 et - 7 CI dès le cycle 1, avec une aire maximale (très faible par rapport à celles de l'inconnu 1) aux cycles 3 et 4 et une quasi disparition à la fin du cycle 6.

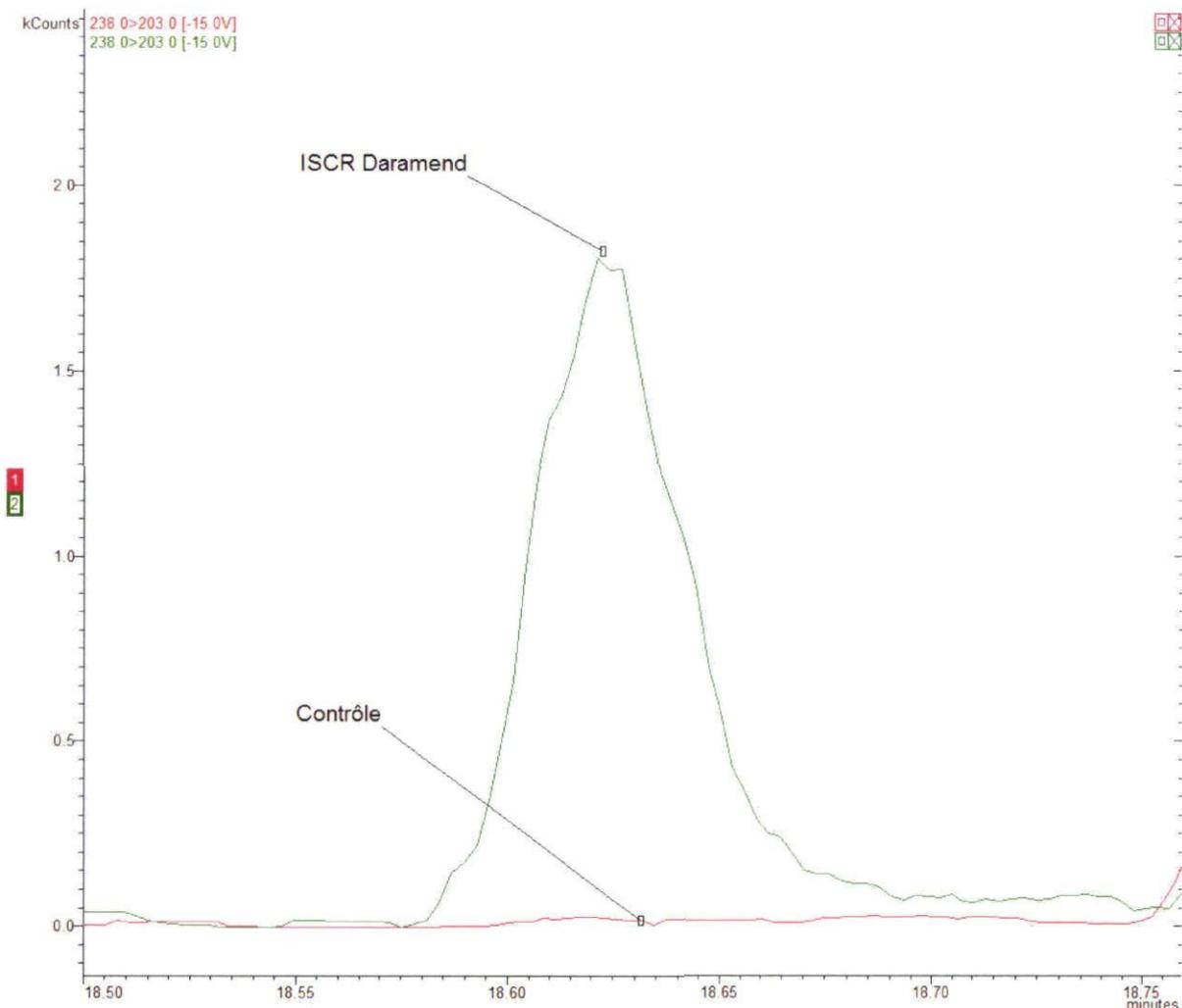


Figure 26 : Chromatogramme du ferralsol contrôle et traité ISCR - Daramend® en fin de phase aérobie du cycle 6 : présence du composé dérivé de la CLD avec - 2CI (18,6 min).

Les remarques faites pour le nitisol au sujet de l'absence de la CLD – 6 CI, d'une des CLD – 7CI, et de l'inconnu 5 restent valables pour le ferralsol.

3.5. ÉVOLUTION EN FONCTION DU TEMPS DANS LES TROIS SOLS

Un des effets négatifs possibles d'un traitement de remédiation est l'augmentation continue des concentrations en produits de transformation dont on ne connaît ni le devenir ni l'écotoxicité.

Les figures 27 à 29 montrent l'évolution en fonction du temps de l'aire relative des pics de trois des produits déchloration réductrice de la CLD formés par ISCR/Daramend®. Pour les trois produits dans les trois sols, les aires de pics passent par un maximum observé vers le milieu de la durée du traitement, avant de décroître pour revenir dans sept cas sur neuf (les deux exceptions concernent l'andosol) au niveau observé après trois semaines de traitement, voire redevenir quasiment indétectables. Seul l'inconnu 1 dans l'andosol semble ne pas subir de transformations ultérieures, son aire de pic restant assez stable au cours du traitement. Ce composé méritera donc plus d'études ultérieures.

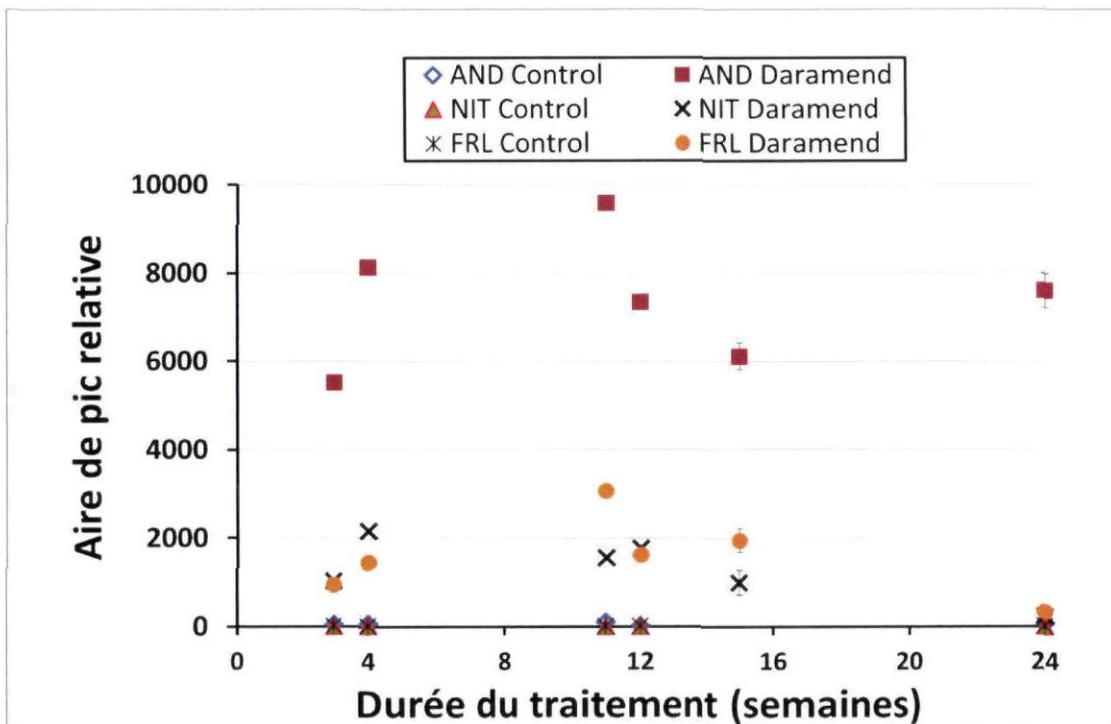


Figure 27 : Évolution de l'aire de pic relative de l'inconnu 1 dans les sols contrôles et traités en fonction de la durée du traitement ISCR/Daramend®.

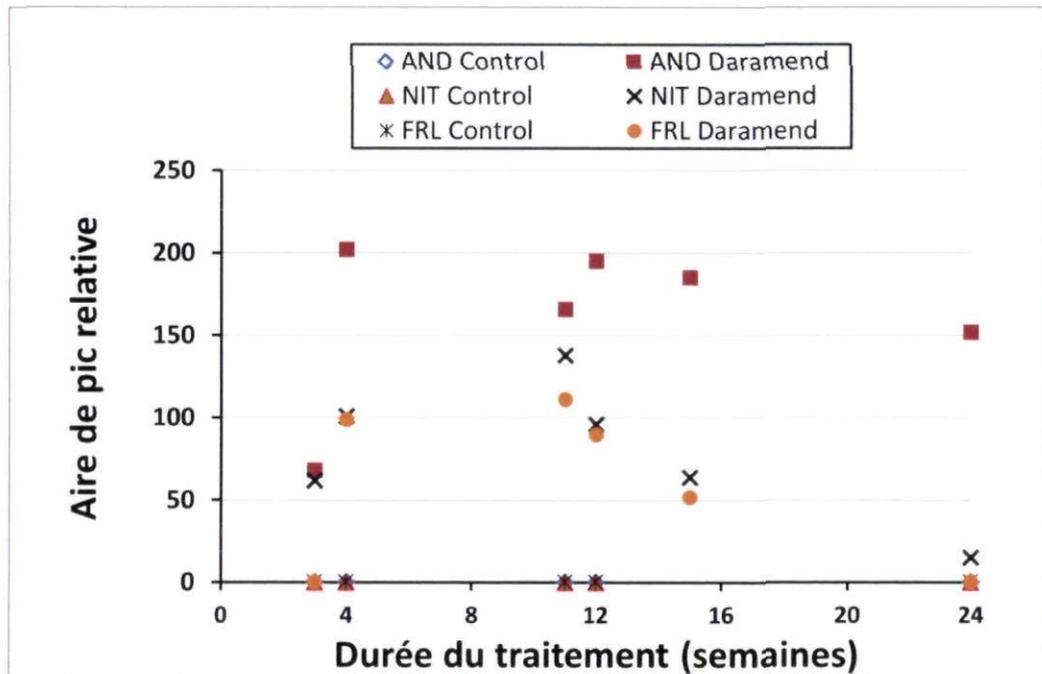


Figure 28 : Évolution de l'aire de pic relative de l'inconnu 2 dans les sols contrôles et traités en fonction de la durée du traitement ISCR/Daramend®.

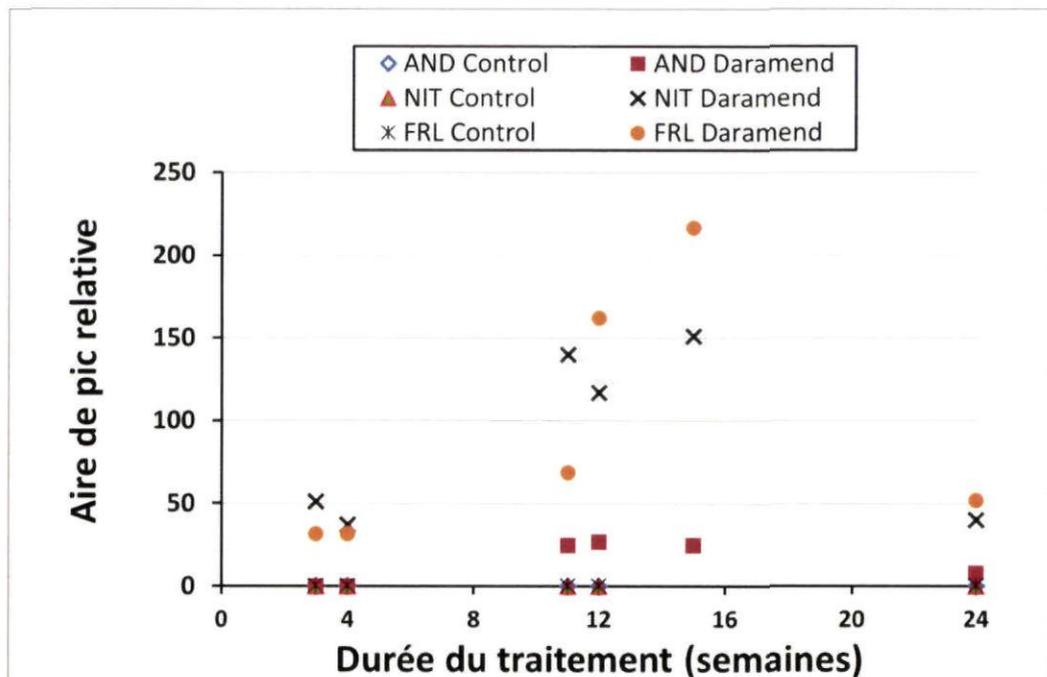


Figure 29 : Évolution de l'aire de pic relative de l'inconnu - 7 Cl, dans les sols contrôles et traités en fonction de la durée du traitement ISCR/Daramend®.

3.6. BILAN DES RECHERCHES DE PRODUITS DE DÉGRADATION DANS LES TROIS SOLS

Le bilan de ces recherches de produits de dégradations est analogue pour l'ensemble des trois sols :

- l'ensemble des valeurs en triplicats sont homogènes (coefficients de variation inférieurs à 20 % dans 86 % des cas) ;
- les produits de dégradation avec une perte de deux chlores ou plus sont retrouvés uniquement dans les sols traités par ISCR avec l'amendement Daramend[®]. Ces résultats confirment que la diminution des concentrations en CLD suite à la mise en œuvre du procédé n'est pas dû seulement à une diminution de l'extractabilité de la CLD ;
- l'inconnu 1 est le produit de transformation présent avec la plus forte aire relative, entre 3 et 250 fois plus forte que n'importe quelle autre substance identifiée. Son aire relative est plus faible que la CLD d'un facteur 13,2 dans l'andosol traité, 5,3 fois dans le nitisol traité et 7,3 fois dans le Ferralsol traité. Il est élué entre la CLD et la 5b-monohydroCLD et sa distribution isotopique montre qu'il possède au moins 5 chlores. Deux des trois fragments obtenus en full-scan sont identifiés et sont identiques à la 5b-monohydroCLD et à la dihydroCLD avec les massifs isotopiques m/z 201/203/205 ($[C_5HCl_4]^+$) et 236/238/240 ($[C_5HCl_5]^+$) (Harless *et al.*, 1978). Seul le massif isotopique m/z 319/321/323 n'est pas identifié. Son spectre ne correspond pas à celui du chlordécol et à des composés du chlordécol déchloré. L'inconnu 1 n'est pas détecté dans le standard analytique mais il est retrouvé à l'état de trace dans le Curlone (l'aire du pic est 150 fois plus faible que la 5b-monohydroCLD) ;
- les recherches des produits de dégradation sur une matrice sable dopée avec 25 mg/kg de CLD et ajout de 1% de sol agricole, traitée par le procédé Daramend[®] avec un abattement de 90% en CLD, avaient permis de retrouver 14 produits de dégradation (résultats non présentés). Onze de ces quatorze produits de dégradation sont retrouvées dans les échantillons de sol antillais « réels » traités par ISCR/ Daramend[®]. Seuls les pics correspondant à la perte de -6 Cl et -7 Cl et le composé inconnu 5 (trois des quatre composés les plus déchlorés identifiés à partir du sable dopé ayant subi 90 % d'abattement) ne sont pas détectés dans les sols antillais traités. Cette discordance peut s'expliquer par le fait que le sable dopé à 25 mg/kg avait vu son dopage de CLD dégradé à 90 %, générant des masses significatives de tous les produits identifiés. L'andosol a une teneur initiale en CLD presque deux fois plus faible que celle du sable dopé et montre un abattement 2 fois moindre de la CLD. Le nitisol et le ferralsol ont des abattements de la CLD équivalents à ceux du sable dopé, mais des teneurs initiales en CLD 20 fois plus faible. Dans ces trois sols réels après traitement par ISCR/Daramend[®], les produits de transformation de la CLD avec - 6 ou - 7 Cl ne sont peut-être pas en masse suffisante pour être détectés. Une autre hypothèse, plus probable, est de considérer que l'efficacité déchlorative de l'ISCR/Daramend[®] est moindre dans les sols réels que dans du sable.

Dans le cas de la CLD, un seul article traite de la toxicité comparée de la molécule mère et de certains de ses produits de transformation. Pour les mitochondries de

cellules de foie de rats (tab. 8), la toxicité du chlordécol est supérieure ou égale à celle de la CLD, elle-même supérieure à celle de la 8-monohydro-CLD, elle-même supérieure à celle de la 2,8-dihydro-CLD (Soileau et Moreland, 1983).

Substance	Vitesse max d'oxydation de NADH (nmole O ₂ /min)	Concentration entraînant un taux donné de gonflement des mitochondries (µM)	Concentration entraînant 50 % d'inhibition de l'oxydation du glutamate (µM)
Chlordécol	37 ± 6	24 ± 1	24 ± 2
Chlordécone (CLD)	32 ± 2	25 ± 0	29 ± 0
monohydroCLD	31 ± 2	35 ± 1	40 ± 2
dihydroCLD	13 ± 4	59 ± 1	> 100

Tableau 8 : Toxicité relative de la CLD et certains de ses dérivés au regard de certains paramètres physiologiques mesurés sur mitochondries de rat (adapté de Soileau et Moreland, 1983).

La communication personnelle de D.W.R. Nimmo (US EPA) à Carver & Griffith en 1978 fait état, pour la crevette opossum (*Americamysis bahia* ex *Mysidopsis bahia*; « mysid shrimp » en anglais), d'une toxicité aiguë de la monohydroCLD équivalente à celle de la CLD, et d'une toxicité aiguë de la dihydroCLD au moins 10 fois plus faible que celle de la CLD (Carver & Griffith, 1979). Aucune donnée expérimentale ni renseignement sur les protocoles utilisés n'est toutefois fourni à l'appui de la communication de Nimmo.

Sur la base, certes restreinte, de ces travaux, on peut penser que les déchloration de la CLD engendrées par le procédé d'ISCR/Daramend® aboutissent à la formation de produits potentiellement moins toxiques que la molécule mère, ou en tout cas que l'ISCR/Daramend® ne devrait pas entraîner d'effet (éco)toxique majeur. La section suivante est consacrée à cette question.



4. Tests d'écotoxicité réalisés sur les sols avant et après traitement par ISCR

4.1. RAISON D'ÊTRE

À partir du moment où on agit sur un milieu pour le modifier dans un sens qu'on espère positif (diminuer la concentration en CLD), il faut essayer de vérifier l'absence d'effets négatifs. Une des manières de procéder à cette vérification est réaliser des tests d'écotoxicologie dont le caractère intégrateur, qui en fait l'intérêt, est largement reconnu (Möser *et al.*, 2011 ; Pandard *et al.*, 2006 ; Römbke *et al.*, 2009). Certes l'écotoxicologie « classique », telle qu'elle a pu être menée ici, ne permet pas d'identifier la(les) substance(s) responsable(s) de l'effet observé, mais par contre elle permet de mesurer d'éventuels effets, ce que ne peut faire aucune analyse physico-chimique, aussi poussée soit-elle. Cette limitation de l'approche de chimie analytique est particulièrement vraie dans le cas de la CLD (et ses dérivés) pour laquelle, à notre connaissance, aucune donnée n'existe sur les relations entre les concentrations dans le milieu naturel et les effets toxiques sur l'environnement. Des relations ont été établies entre les teneurs en CLD dans les sols et divers végétaux poussant sur ces sols (Lesueur-Jannoyer *et al.*, 2010), mais il s'agit d'étude de bioaccumulation, pas d'écotoxicologie.

Le choix a été fait de procéder à des tests d'écotoxicité aiguë et chronique (pour prendre en compte différents types d'effets), couvrant différents niveaux trophiques (pour estimer les effets possibles sur différents organismes), standardisés (pour permettre une comparaison avec des résultats obtenus par ailleurs en utilisant ces mêmes protocoles), et confiés à un laboratoire accrédité (pour assurer la validité des résultats ; IPL Maxéville). Deux matrices ont été étudiées : des éluats préparés par lixiviation des sols (de manière à simuler par exemple une eau d'infiltration ou de ruissellement), et les sols eux-mêmes (pour tester l'écotoxicité à l'égard de végétaux poussant sur ces sols). Il faut noter qu'aucun test d'écotoxicité standardisé ne met en œuvre d'organismes spécifiques des Antilles françaises, si bien que c'est l'avoine et le colza qui ont été testés, et non la patate douce ou le dachine. Des travaux spécifiques sur l'écotoxicité de la CLD sont menés dans les projets ANR CHLORDEXCO et MACHLOMA par l'équipe DYNACAR de l'Université des Antilles-Guyane, mais les résultats ne sont pas encore publics.

4.2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.2.1. Préparation des éluats

Les éluats ont été obtenus suivant le protocole de lixiviation EN 12457-2 (AFNOR, 2002) indice de classement X 30 402-2 :

- rapport massique Liquide/Solide = 10 calculé en équivalent de matière sèche ;
- agitation 24 heures, par retournement (5 à 10 tours/min) ;

- séparation par centrifugation 3 000 t/min, 30 min, si nécessaire ;
- filtration de l'éluat à 0,45 µm sur filtre nylon ;
- ajustement du pH à 5,5 ou 8,5 à l'aide de HNO₃ (65 %) ou de NaOH (1N).

4.2.2. Tests de toxicité réalisés sur les éluats des sols

Tests de toxicité aiguë : test d'immobilisation sur microcrustacés (*Daphnia magna*, AFNOR 1996, NF EN ISO 6341)

Ce test repose sur la détermination de la concentration qui, en 24 h et/ou 48 h, immobilise 50 % des daphnies mises en expérimentation. Cette concentration, dite concentration d'immobilisation est désignée par CE 50i %.

L'essai est conduit en deux étapes :

- un essai préliminaire qui donne une indication approximative de la CE 50i-24 et 48 h et sert à déterminer la gamme des concentrations pour l'essai définitif (deux répétitions par concentration testée) ;
- l'essai définitif est conduit en choisissant une gamme de concentrations (en général en progression géométrique) de façon à recouvrir et à border de part et d'autre l'intervalle des concentrations, qui lors de l'essai préliminaire fait passer le pourcentage d'immobilisation de 0 à 100 % (quatre répétitions par concentration testée).

Organisme d'essai : élevage de l'US Ecotoxicologie d'IPL SED Est.

Espèce : *Daphnia magna*.

Souche : *Daphnia magna* Straus clone 5.

Origine : EBSE Metz, France.

Essai sur substance de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : K₂Cr₂O₇.

Méthode de calcul de la CE50 : modèle statistique Log-Probit (logiciel Toxcalc).

Tests de toxicité aiguë : Test d'inhibition de la luminescence de bactéries marines (*Vibrio fischeri* ou *Microtox*®, AFNOR 2009a – Norme EN ISO 11348-3)

Ce test repose sur la détermination de l'inhibition de la luminescence émise par une bactérie marine *Vibrio fischeri* (anciennement *Photobacterium phosphoreum*). Cet essai permet de déterminer la concentration d'échantillon (en %) qui, après 5, 15 à 30 mn, inhibe 50 % de la luminescence des bactéries. Cette concentration est désignée par CE 50-t, t représentant le temps de contact des bactéries avec l'échantillon.

Nombre de répétitions par concentrations testées et témoins : 2.

Organisme d'essai : *Vibrio fischeri* (NRRL B-11177).

Fournisseur de la souche lyophilisée : R-Biopharm.

Essai sur substances de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : - ZnSO₄, 7H₂O, 3,5-dichlorophénol (C₆H₄OCl₂) et K₂Cr₂O₇.

Méthode de calcul de la CE50 : logiciel Microtox-Omni.

Test de toxicité chronique : détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 h - Essai d'inhibition de la croissance de la population (AFNOR 2009b – NF ISO 20666)

De jeunes femelles *Brachionus calyciflorus* (*Monogota*, *Rotifera*), âgées de moins de 2 h au début de l'essai, sont exposées individuellement pendant une période de 48 h à une gamme de concentrations de l'échantillon. En fin d'essai, le nombre de rotifères femelles est déterminé et, par comparaison avec le témoin, les pourcentages d'inhibition de la croissance de la population sont déterminés à chaque concentration.

Nombre de répétitions par concentrations testées et témoins : 8.

Organisme d'essai : *Brachionus calyciflorus*.

Fournisseur des sporocystes déshydratés : R-Biopharm.

Essai sur substance de référence réalisé à chaque série analytique comprenant au moins un essai définitif : CuSO₄, 5H₂O.

Méthode de calcul de la CE20 : modèle logistique basé sur l'équation de Hill (macro Regtox_ev6.6.2.xls).

4.2.3. Tests de toxicité réalisés sur les sols

Test d'inhibition de l'émergence et de la croissance de semences par une matrice potentiellement polluée (AFNOR 2006 – NF ISO 11269-2)

Les échantillons de sols sont dilués avec le milieu ISO (mélange de 70 % de sable de Fontainebleau, 20 % de kaolinite et 10 % de sphaigne). Les différentes graines (une monocotylédone : avoine – *Avena sativa* et une dicotylédone : colza – *Brassica napus*) sont plantées dans les dilutions.

L'essai se déroule en deux étapes (nombre de graines semées par pot : 10) :

- un essai préliminaire de 7 jours qui permet d'étudier l'effet de 5 concentrations, 1, 5, 10, 50 et 100 % d'échantillon dilué (ou non, dans le cas du 100 %) avec le sol ISO (une répétition par concentrations testées et témoin) ;

- un essai définitif pour lequel une série de 5 dilutions (p. ex. 70 % - un peu supérieure à la dilution ayant entraîné 100 % d'effet lors du test préliminaire-, 49 %, 35 %, 21 %, 7 % - un peu inférieure à la dilution ayant entraîné 0 % d'effet lors du test préliminaire) est réalisée, avec quatre répétitions par concentrations testées et pour le témoin.

L'émergence et la croissance des semences sont suivies quotidiennement lors de l'arrosage.

Après 7 jours, les graines germées sont comptabilisées dans les différentes dilutions pour déterminer l'effet sur la germination et le nombre de pousses est réduit à cinq.

Après 14 jours minimum et au maximum au bout de 21 jours après que 50 % des semis témoins ont émergé, la biomasse de chaque dilution est quantifiée par pesée.

Essai sur substance de référence réalisé tous les six mois ou à chaque changement de lot : acide borique.

Méthode de calcul des CE50 (germination et croissance) : modèle statistique Log-Probit (logiciel Toxcalc).

Méthode de calcul des CE50 (germination et croissance) : modèle statistique Log-Probit ou par interpolation linéaire (logiciel Toxcalc).

Diamètre des pots : 9,5 cm.

Masse de sol par pot : de l'ordre de 250 grammes.

Type d'environnement : phytotron.

Cycle jour/nuit : 16 heures/8 heures.

Température : 22 °C ± 1 °C (jour) / 18 °C ± 1 °C (nuit).

Humidité relative : 70 %.

Type d'éclairage : tubes fluorescents « lumière du jour ».

Intensité de l'éclairage : environ 7 500 lux.

4.3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.3.1. Propriétés physico-chimiques des éluats

Le tableau 9 regroupe les mesures effectuées sur les éluats des trois sols après traitement ISCR/Daramend®. L'apport de l'amendement Daramend entraîne une remontée de pH de 0,4 unité pour le ferralsol, 0,5 pour l'andosol, et 1,4 pour le nitisol. La remontée nettement plus forte du nitisol n'est pas explicable par les données

disponibles. La conductivité est également plus élevée dans les sols traités, en particulier pour l'andosol et le nitisol (augmentation d'un facteur 2,1) ; les valeurs ne dépassent toutefois pas 550 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Sol	pH éluat	Ajustement du pH	Conductivité
AND Témoin	5,8	non	260 $\mu\text{S}/\text{cm}$
FRL Témoin	5,0	pH 5,5 avec 0,05 mL NaOH 1N pour 1 litre	180 $\mu\text{S}/\text{cm}$
NIT Témoin	5,0	pH 5,5 avec 0,05 mL NaOH 1N pour 1 litre	160 $\mu\text{S}/\text{cm}$
AND traité	6,2	non	550 $\mu\text{S}/\text{cm}$
FRL traité	5,5	non	270 $\mu\text{S}/\text{cm}$
NIT traité	6,4	non	340 $\mu\text{S}/\text{cm}$

Tableau 9 : Mesures physico-chimiques effectuées sur les éluats des trois sols témoins et des mêmes sols après le traitement ISCR.

4.3.2. Vérification de la validité des tests biologiques de toxicité

Conformément aux normes, certains paramètres des milieux expérimentaux (e.g. teneur en oxygène dissout) sont vérifiés pendant la réalisation des tests ; par ailleurs la réponse des tests est également comparée à des réponses standards obtenues avec des substances de référence. Tous les résultats obtenus se sont révélés conformes aux normes de validité exposées ci-dessous.

Test daphnies

Teneur en oxygène dissout supérieure ou égale à 2 mg/L dans la concentration maximale correspondant à 100 % d'immobilisation des daphnies après 48 h d'incubation : 100 % d'immobilisation non atteint à la plus forte concentration testée (90 % volume/volume) pour les trois éluats.

Pourcentage d'immobilisation des daphnies dans les récipients témoins égal à 0 % après 48 h d'incubation (critère d'acceptabilité de la norme : pourcentage inférieur ou égal à 10 %).

Substance de référence réalisée en parallèle : ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) CE 50-24h = 1,0 mg/L (valeur conforme aux résultats précédemment obtenus par le laboratoire et comprise entre 0,6 mg/L et 1,7 mg/L – gamme acceptable de sensibilité des daphnies comme définie dans la norme NF EN ISO 6341 : AFNOR 1996).

Test Vibrio fischeri

Les rapports des blancs sont compris entre 0,6 et 1,8.

L'écart par rapport à la moyenne des témoins est inférieur à ou égal 3% (arrondi à un chiffre significatif).

Pour les déterminations effectuées en double, les taux d'inhibition ne donnent pas d'écarts strictement supérieurs à 3 %.

L'inhibition de la luminescence est comprise entre 20 % et 80 % au bout de 30 mn ± 20 s aux concentrations suivantes :

- 3,4 mg/L de 3-5 dichlorophénol : 59 % ;
- 2,2 mg/L de Zn²⁺ (sous forme de ZnSO₄, 7H₂O) : 59 % ;
- 18,7 mg/L de Cr⁶⁺ (sous forme de K₂Cr₂O₇) : 37 %.

Test Brachionus

Pourcentage de reproduction observé dans plus de 87,5 % des répétitions du lot témoin (100 %).

Nombre moyen de *Brachionus calyciflorus* femelles dénombrées par puits dans le lot supérieur à 3 à la fin de l'essai :

- essai « NITISOL » : 5,4 ;
- essai « FERRALSOL » : 5,3 ;
- essai « ANDOSOL » : 5,0.

Substance de référence réalisée en parallèle : (CuSO₄, 5H₂O).CE 50-72 h = 42,5 µg/L.

Test plantes

Nombre moyen de graines germées supérieures à 7 après 7 jours :

- avoine « NITISOL » : 9,0 ;
- colza « NITISOL » : 9,0 ;
- avoine « FERRALSOL » : 8,5 ;
- colza « FERRALSOL » : 9,3 ;
- avoine « ANDOSOL » : 9,0 ;
- colza « ANDOSOL » : 9,5.

Substance de référence (date de début d'analyse : 01/06/10) :

- avoine (*Avena sativa*) : CE50croissance = 207 mg/kg ;
- colza (*Brassica napus*) : CE50croissance = 269 mg/kg.

4.3.3. Essais d'écotoxicité sur éluats

Les résultats obtenus sur les sols témoins non traités sont reportés au tableau 10, ceux des sols traités au tableau 11. Le descripteur toxicologique est présenté sous la forme classique de CE X%-T : Concentration efficace (CE) provoquant un effet sur X % de la population après un temps T.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	Nitisol témoin	Ferralsol témoin	Andosol témoin
Microtox®	Inhibition de la luminescence	CE 50-5 mn	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %
		CE 50-15 mn	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %
		CE 50-30 mn	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %
Daphnies	Immobilisation	CE 50i-24h	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %
		CE 50i-48h	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %
Brachionus	Croissance de la population	CE 20-48h	Non toxique à 90 %	39,4 % (23,3-54,6)	43,2 % (16,0-73,3)

Tableau 10 : Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats des sols témoins.

(entre parenthèses : intervalle de confiance à 95 % de la CE50% et/ou CE20%).

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	Nitisol traité	Ferralsol traité	Andosol traité
Microtox®	Inhibition de la luminescence	CE 50-5 min	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %
		CE 50-15 min	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %
		CE 50-30 min	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %	Non toxique à 80 %
Daphnies	Immobilisation	CE 50i-24h	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %
		CE 50i-48h	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %	Non toxique à 90 %
Brachionus	Croissance de la population	CE 20-48h	52,8 % (32,2-83,4)	51,9 % (14,3-87,6)	40,3 % (23,8-57,2)

Tableau 11 : Tableau récapitulatif en % (Volume/Volume) des résultats des tests biologiques réalisés sur les éluats des sols traités par ISCR.

(entre parenthèses : intervalle de confiance à 95 % de la CE50% et/ou CE20%).

Seul le test *Brachionus* appliqué au nitisol traité montre une écotoxicité plus élevée que celle du sol témoin. Il faut toutefois noter que ce test montre une écotoxicité des témoins de l'andosol et du ferralsol quasi équivalente à celle de ce mêmes sols traités (cf. intervalles de confiance), et plus élevée que celle du nitisol traité (plus les % des

tableaux 10 et 11 sont faibles plus l'écotoxicité est forte). L'effet écotoxique observé dans le nitisol après traitement ISCR/Daramend® doit donc être largement relativisé.

Par ailleurs, des travaux ont montré que *Brachionus calyciflorus* est plus sensible que *Vibrio fischeri* (microtox) et *Daphnia magna* pour une série de contaminants (Radix et al., 2000). La plus forte réponse observée ici pour *Brachionus calyciflorus* par rapport aux deux autres tests est donc en accord avec la littérature.

4.3.4. Écotoxicité des sols

Les résultats obtenus sur les sols témoins non traités sont reportés au tableau 12, ceux des sols traités au tableau 13.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	Nitisol témoin	Ferralsol témoin	Andosol témoin
Avoine	Germination	CE 50-7 jours	Non toxique 72 % de MS	Non toxique 78 % de MS	Non toxique 41 % de MS
Avoine	Croissance	CE 50-18 jours	Non toxique 72 % de MS	Non toxique 78 % de MS	Non toxique 41 % de MS
Colza	Germination	CE 50-7 jours	Non toxique 72 % de MS	Non toxique 78 % de MS	Non toxique 41 % de MS
Colza	Croissance	CE 50-18 jours	Non toxique 72 % de MS	Non toxique 78 % de MS	Non toxique 41 % de MS

Tableau 12 : Résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests plantes réalisés sur les sols témoins.

Tests	Effet	Descripteur toxicologique	Nitisol traité	Ferralsol traité	Andosol traité
Avoine	Germination	CE 50-7 jours	Non toxique 68 % de MS	Non toxique 70 % de MS	Non toxique 41 % de MS
Avoine	Croissance	CE 50-18 jours	Non toxique 68 % de MS	Non toxique 70 % de MS	Non toxique 41 % de MS
Colza	Germination	CE 50-7 jours	Non toxique 68 % de MS	Non toxique 70 % de MS	Non toxique 41 % de MS
Colza	Croissance	CE 50-18 jours	Non toxique 68 % de MS	Non toxique 70 % de MS	Non toxique 41 % de MS

Tableau 13 : Résultats en % de matière sèche (Masse/Masse) des tests plantes réalisés sur les sols traités.

Les teneurs en eau du nitisol et du ferralsol traités étaient légèrement supérieures à celles des sols témoins ; la matière organique apportée par l'amendement a en effet une capacité de rétention en eau supérieure à celle du sol (ce n'est pas le cas pour l'andosol). Vu que les résultats sont exprimés en % de matière sèche du sol étudié, de légères différences apparaissent donc entre les résultats d'écotoxicité des sols témoins et des sols traités.

Par ailleurs, le mode d'expression des résultats, en % de matière sèche, implique que la plus forte valeur testée correspond au test effectué avec la matrice solide constituée à 100 % du sol étudié. À titre d'exemple, pour le nitisol avec une teneur en eau de

28 %, la teneur en matière sèche (MS) est de 72 %, et l'absence totale d'effet écotoxique du sol sera exprimée par « non toxique à 72 % de MS ». Pour un andosol avec 59 % de teneur eau, le même résultat sera exprimé sous la forme « non toxique à 41 % de MS ».

Pour les quatre effets étudiés (germination et croissance de deux plantes), aucun effet écotoxique n'est induit par le traitement ISCR/Daramend®. Certes les plantes testées ne sont pas typiques des Antilles, et la mesure de croissance s'arrête au 21^e jour. On aurait toutefois pu craindre des effets assez nets, vu par exemple les conditions réductrices ($E_h = -300$ mV) générées lors du 1^{er} cycle de traitement (Dictor *et al.*, 2001).

Le traitement appliqué induit peut-être des perturbations des cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote ; des études plus fines du fonctionnement microbien des sols devraient être menées pour apporter des compléments d'information sur le sujet. Des essais in situ aux Antilles, avec des cultures vivrières locales, sont également à réaliser avant de conclure définitivement à l'innocuité agronomique de l'ISCR appliqué à ces sols.

Une illustration détaillée des résultats obtenus pour la croissance de l'avoine et l'orge dans le nitisol témoin et traité est donnée aux figures 30 à 33.

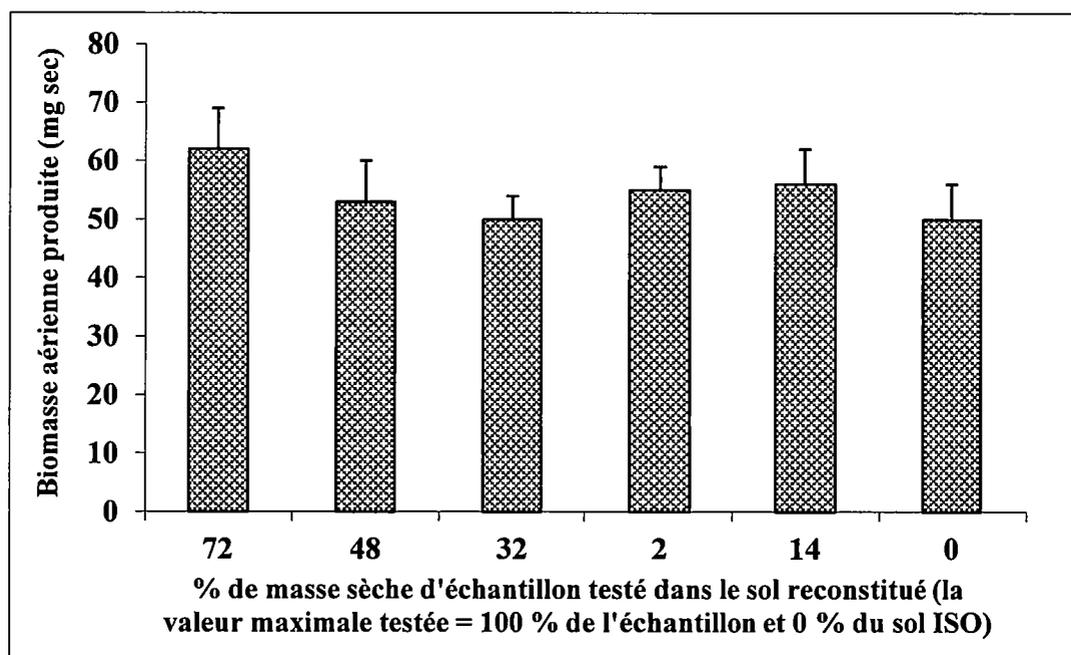


Figure 30 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, $n = 4$) par l'avoine cultivée dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol témoin (72 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).

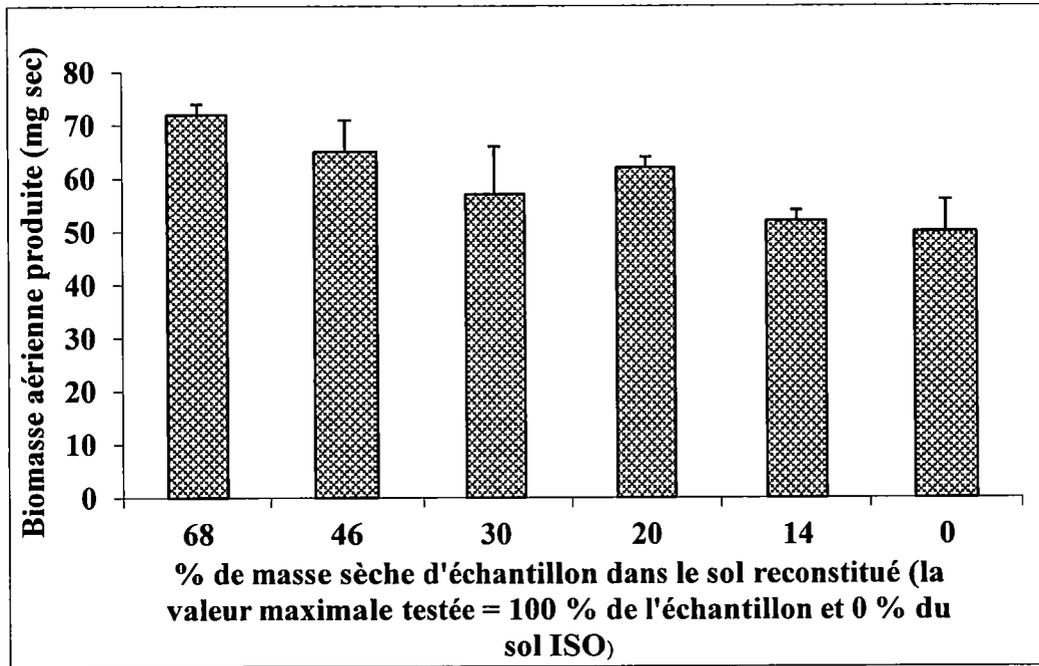


Figure 31 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par l'avoine cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol après traitement par ISCR (68 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).

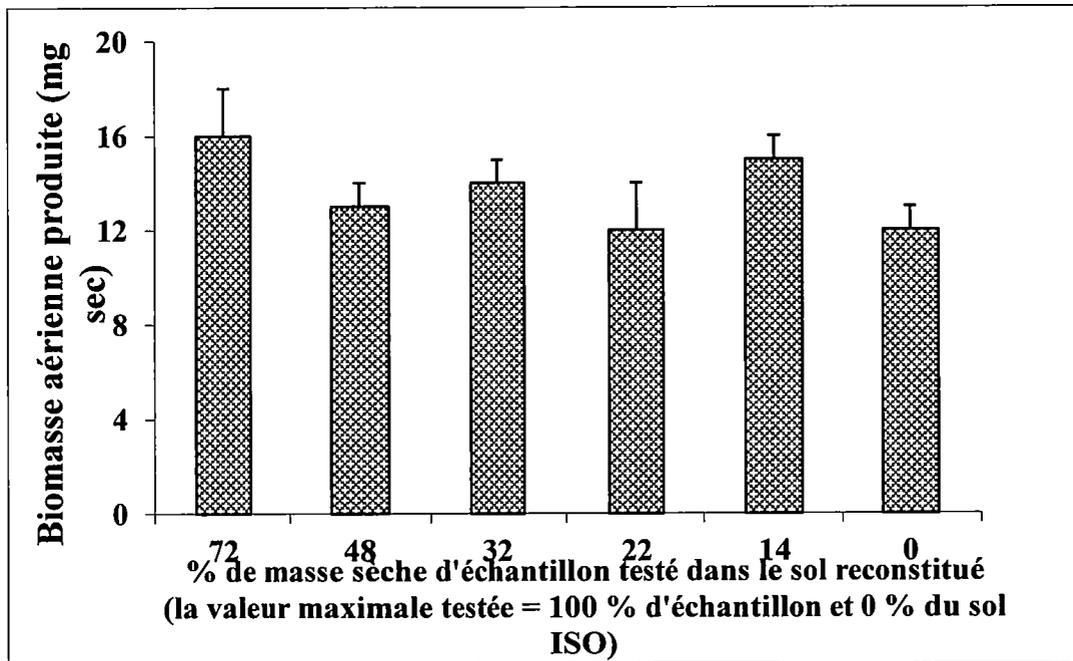


Figure 32 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par le colza cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol témoin (72 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).

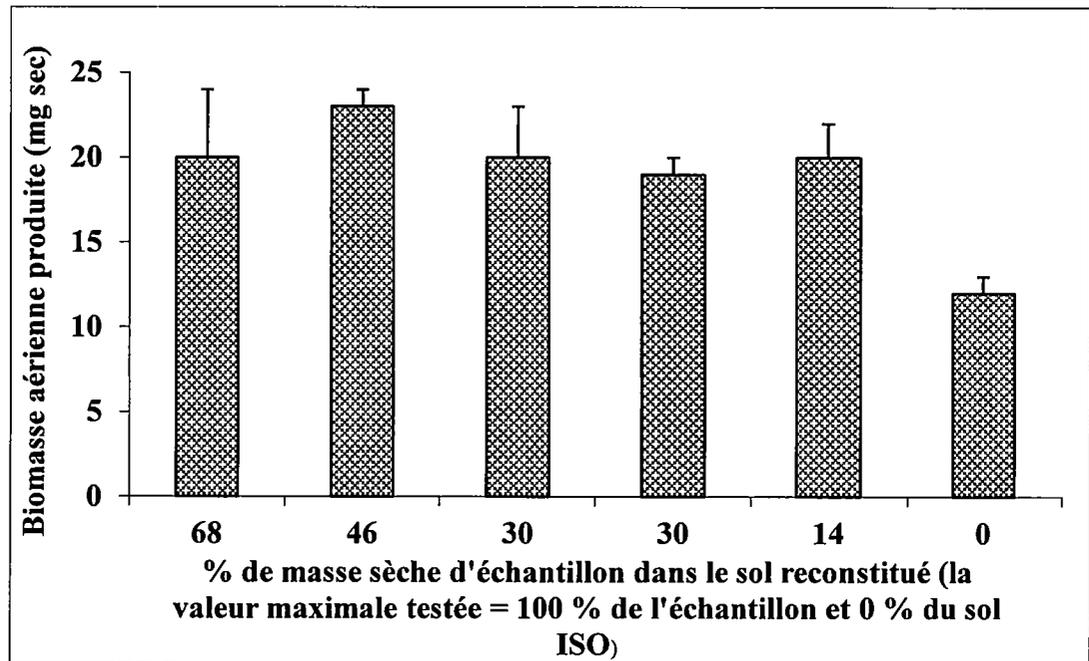


Figure 33 : Biomasse aérienne produite (mg sec, moyenne et écart-type, n = 4) par le colza cultivé dans le sol témoin ISO (0 % de matière sèche d'échantillon) et dans le nitisol après traitement par ISCR (68 en abscisse correspond à 100 % de nitisol).



5. Conclusions - perspectives

Deux conclusions majeures sont à tirer des travaux présentés.

D'un point de vue analytique, une méthode d'identification en GC/MS de produits de transformation de la CLD suite à une déchloration réductrice a été développée. Dans l'état actuel, et à partir des échantillons étudiés, les spectres de 14 produits sont disponibles, et pour plusieurs d'entre eux le niveau de déchloration est certain. Pour d'autres, le doute subsiste et des améliorations restent à faire. Les principales perspectives suggérées sont les suivantes :

- le recours à la chromatographie liquide avec spectrométrie de masse (LC/MS) et à la GC/MS très haute résolution, pour permettre une identification plus certaine des composés. La LC permettrait également l'accès à des composés non analysables en GC/MS (thermolabiles, plus polaires) ;
- l'utilisation de la méthode sur des sols à teneur en CLD encore plus élevée que ceux étudiés ici (nitisol : 1,2 mg/kg, ferralsol : 2,6 mg/kg, andosol : 14,3 mg/kg), éventuellement par dopage, pour générer de plus fortes masses des produits de transformation ce qui en rendrait l'identification plus sûre ;
- l'isolement en chromatographie préparative (gaz ou/et liquide) des dérivés majoritaires pour analyse structurale, préparation d'étalons analytiques, et tests de toxicité et écotoxicité.

En ce qui concerne l'écotoxicologie, le traitement par ISCR/Daramend® des trois types de sols ne s'accompagne d'aucun effet significatif sur aucun des sept tests pris en compte. Six des sept tests réalisés ne montrent aucune différence d'écotoxicité entre les sols traités et les sols témoins. Seul le test basé sur le rotifère *Brachionus calyciflorus* appliqué au nitisol traité montre une réponse plus forte que le nitisol témoin. Il faut toutefois noter que ce test montre une écotoxicité des témoins de l'andosol et du ferralsol plus élevée que celle du nitisol traité. L'effet écotoxique observé sur *Brachionus calyciflorus* dans le nitisol après traitement ISCR/Daramend® doit donc être largement relativisé. Au niveau des tests plantes, ni la germination ni la croissance du colza et de l'avoine ne sont influencés négativement par le traitement. La question n'est toutefois pas complètement réglée, et diverses perspectives s'ouvrent pour des travaux futurs :

- la prise en compte d'organismes spécifiques des environnements Antillais ; des travaux spécifiques sur l'écotoxicité de la CLD sont menés dans les projets ANR CHLORDEXCO et MACHLOMA par l'équipe DYNACAR de l'Université des Antilles-Guyane mais les résultats ne sont pas encore publics ;
- l'étude de la bioaccumulation de la CLD par de cultures vivrières locales, en comparant les teneurs atteintes à partir de sols témoins et de sols traités par ISCR/Daramend®.

Une dernière perspective plus large peut être mentionnée : la réalisation de tests pilote de remédiation de sols *in situ* aux Antilles. De cette manière, l'efficacité du procédé

dans les conditions réelles (notamment agronomiques et météorologiques) et à une échelle représentative (100 m²) pourra réellement être déterminée, et d'éventuels effets indésirables suivis attentivement. Un projet de ce type est en cours de préparation par le BRGM à la demande du Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie.

6. Références

AFNOR (2009a) - Norme EN ISO 11348-3. Indice de classement T 90-320-3. Qualité de l'eau. Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes). Partie 3 : Méthode utilisant des bactéries lyophilisées. 29 p.

AFNOR (2009b) - NF ISO 20666. Indice de classement T 90-334. Qualité de l'eau. Détermination de la toxicité chronique vis-à-vis de *Brachionus calyciflorus* en 48 h. 22 p.

AFNOR (2006a) - NF ISO 11269-2. Indice de classement X 31-207-2. Qualité du sol. Détermination des effets des polluants sur la flore du sol. Partie 2 : Effets des substances chimiques sur l'émergence et la croissance des végétaux supérieurs. 17 p.

AFNOR (2006b) - Norme EN 12457-2. Indice de classement X 30-452. Caractérisation des déchets. Préparation des échantillons de déchets en vue d'essais écotoxicologiques. 45 p.

AFNOR (2002) - Norme EN 12457-2. Indice de classement X 30 402-2. Caractérisation des déchets. Lixiviation — Essai de conformité pour lixiviation des déchets fragmentés et des boues. Partie 2 : Essai en bûchée unique avec un rapport liquide-solide de 10 l/kg et une granularité inférieure à 4 mm (sans ou avec réduction de la granularité). 29 p.

AFNOR (1996) - NF EN ISO 6341. Qualité de l'eau ; Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Essai de toxicité aiguë. 14 p.

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.

Carver R.A., Griffith F.D. (1979) - Determination of Kepone dechlorination products in finfish, oysters and crustacean. *J. Agric. Food Chem.*, 27, p. 1035-1037.

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) - 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., Blanke R.V., Saady J.J., Guzelian P.S. (1980) - Demonstration of major metabolic pathways for chlordecone (kepone) in humans. *Drug Metabol. Disp.*, 8, p. 434-438.

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

Lesueur Jannoyer M., Achard R., Cabidoche Y.M. (2010) - How to manage food safety and cropping systems in the situation of environmental pollution? Case of persistent pesticide in soils in the FWI; ISHS International Horticulture Congress 2010, Lisbonne, Portugal, 22-26 août 2010.

Moser H., Roembke J., Donnevert G. & Becker R. (2011) - Evaluation of biological methods for a future methodological implementation of the Hazard criterion H14 "ecotoxic" in the European waste list (2000/532/EC). *Waste Manag. Res.* 29: p. 180-187.

Pandard P., Devillers J., Charissou A.M., Poulsen V., Jourdain M.J., Féraud J-F., Grand C. & Bispo A. (2006) - Selecting a Battery of Bioassays for Ecotoxicological Characterization of Wastes. *Sci. Total Environ.* 363: p. 114-125.

Radix P., Leonard M., Papantoniou C., Roman G., Saouter E., Gallotti-Schmitt S., Thiebaud H., Vasseur P. (2000) - Comparison of four chronic toxicity tests using algae, bacteria, and invertebrates assessed with sixteen chemicals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47 (2), p. 186-194.

Römbke J., Moser T.H. & Moser H. (2009) - Ecotoxicological characterization of 12 incineration ashes (MWI) using 6 laboratory tests. *Waste Management* 29: p. 2475-2482.

Schrauzer C.N. and Katz N.R. (1978) - Reductive dechlorination and degradation of Mirex and Kepone with Vitamin B₁₂. *Biorganic chemistry*. 9: p. 123- 143.

Soileau S.D., Moreland (1983) - Effects of chlordecone and its alteration products on isolated rat liver mitochondria. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 67, p. 89-99.



Centre scientifique et technique
Service environnement industriel et procédés innovants
3, avenue Claude-Guillemin
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34