

## **Quantification de la chlordécone dans l'eau, les sols et les plantes par micro-extraction en phase solide et chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (SPME / GC-MS & MS/MS).**

Alain Soler<sup>(1)</sup>, Marc Lebrun<sup>(2)</sup>, Yoan Labrousse\*<sup>(3)</sup>, Thierry Woignier<sup>(3,4)</sup>

(1) Cirad, UPR Banana, Plantain and Pineapple cropping systems, CAEC B.P. 214 Petit Morne, 97285, Le Lamentin, Martinique, France.

(2) Cirad UR HortSys, TA B-103/PS4, Boulevard de la Lironde, 34398, Montpellier Cedex 5, France

(3) Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE), Aix-Marseille Université, UMR CNRS IRD Avignon Université, Faculté de Saint Charles, Case 4 - Bât. Sciences Naturelles, 3, place Victor Hugo, F-13331 Marseille cedex 03, France ; [yoan.labrousse@imbe.fr](mailto:yoan.labrousse@imbe.fr)

(4) Campus Agro Environnemental Caraïbes-IMBE- UMR CNRS 7263 UMR IRD 237, B.P. 214 Petit Morne, 97285, Le Lamentin, Martinique

### **1. Introduction**

La chlordécone (CLD) est un pesticide organochloré autrefois utilisé pour lutter contre le charançon du bananier dans les Antilles françaises. Actuellement, il est devenu un contaminant majeur des sols et des ressources en eau (Cabidoche *et al.*, 2009). En raison d'une exposition chronique de l'environnement, ce polluant est potentiellement dangereux pour la santé de la population (Ramdine & Lemoine, 2008 ; Multigner *et al.*, 2010). Nous proposons une méthode de mesure quantitative des résidus de chlordécone dans différents types d'échantillons. Cette méthode est comparée à la méthode de référence actuellement en vigueur (NF P 41-250-1 XP, 2, 3 -AFNOR, 2001).

Ce travail présente une méthode simple et précise de type SPME/GC-MS (ou GC-MS/MS) pour l'analyse quantitative de CLD dans de petits échantillons d'eau, de plantes et de sol (sous-échantillonnage = 500 mg de sol et des plantes). Pour les échantillons d'eau, la mesure est comparée directement à une courbe d'étalonnage élaborée à partir de solution de concentrations variables en CLD avec étalon interne (méthoxychlore). En revanche, la quantification de la CLD dans les échantillons de plantes et de sol se fait par la méthode des ajouts dosés en raison de l'adsorption d'une partie de la CLD sur la matière organique ou les allophanes des andosols (Ostroukhova & Zenkevich, 2006).

## 2. Techniques expérimentales

### 2.1. Échantillons d'eau

Un essai inter-laboratoire pour l'analyse de la CLD dans l'eau a été organisée par le BRGM Orléans (Bristeau & Ghetsem, 2012), qui a fourni deux types d'échantillons d'eau : eau de surface ([CLD] = 0,3  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) et eau souterraine ([CLD] = 0,1  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ). Les échantillons sont analysés directement par SPME / GC-MS après addition de l'étalon interne (250  $\mu\text{L}$  d'une solution à 37,5 Métoxychlore  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) et sans aucune autre préparation. Les dix autres laboratoires utilisent l'extraction de la CLD par des solvants avant détection par MS ou MS-MS après séparation par GC ou LC. Les résultats (tableau 1) démontrent l'intérêt de la SPME comme une méthode simple et précise de la mesure de la concentration en CLD dans les échantillons d'eau.

Echantillons	[CLD]	[CLD]	Biais	Biais	Biais	Biais
	Théorie $\mu\text{g.L}^{-1}$	SPME $\mu\text{g.L}^{-1}$	moyen SPME%	global max %	global min %	global moyen %
<b>Eau souterraine</b>	0.102	0.104 0.109	4%	71%	3%	36%
<b>Eau de surface</b>	0.304	0.320 0.317	5%	85%	2%	25%
<b>Sol. standard</b>	2002.0	2189.0 1880.0	2%	104%	2%	24%

- Biais (min, max et moyen) = biais calculé pour les 11 laboratoires participants.

- Biais (SPME) et [Chlordecone] SPME : données obtenues par la méthode proposée SPME/GC-MS

*Tableau 1 : Essai inter laboratoires pour la mesure de CLD dans les échantillons d'eau (AQUAREF Report, BRGM, 2012)*

### 2.2. Echantillons de plantes et de sols

Les échantillons de sol (200 g) (andosols et ferralsols) et les échantillons de plantes (20 g) (racines d'ananas) sont partiellement séchés (une nuit à 70°C). Les échantillons de sols sont ensuite homogénéisés dans un broyeur de sol Retsch® (max 100  $\mu\text{m}$ ). Les échantillons de plantes sont broyés dans un «broyeur IKA A11®». Puis, 500 mg d'échantillons de sol ou de végétaux sont ensuite broyés pendant 10 minutes dans 20 ml d'eau distillée avec un mortier automatique en acier inoxydable, afin d'obtenir une suspension très fine. La suspension a ensuite été diluée jusqu'à 100 ml avec de l'eau ultrapure.

Pour la quantification, la procédure d'échantillonnage a été standardisée: quatre fois 1 mL de la suspension sont prélevés avec une pipette automatique sous agitation magnétique à vitesse contrôlée, au 1/3 de la hauteur de la suspension (sous agitation)

dans un becher en verre de 150 ml spécialement dédiée à cette opération, et ensuite transférés dans des flacons SPME de 20 ml préalablement pesés. L'étalon interne (IS) est ajouté et le volume final amené à 18,5 ml avec de l'eau ultrapure. La répétabilité de la procédure a été validée sur deux sols et sur les racines d'ananas avec dix prélèvements de 1 mL. Ils ont été séchés à 80 °C pendant 5 h, conservés pendant une nuit sous atmosphère sèche. Ensuite, les résidus secs ont été déterminés sur une balance électronique ( $\pm 0,01$  mg), les moyennes et les écarts types ( $\alpha = 0,05$  mg) ont été calculés.

### **2.3. Instrumentation et conditions de fonctionnement GC-MS/MS**

Les analyses de CLD ont été effectuées sur un GC450 / MS240 ion trap en mode d'ionisation par impact électronique (IE) (70 eV) (Varian, USA), la séparation a été réalisée sur une colonne non polaire RTX-1ms (Restek, Etats-Unis), 15 m, 0,25 mm ID, 0,25  $\mu\text{m}$  df, avec de l'hélium (pureté N60) comme gaz vecteur à un débit constant de 1 mL.min<sup>-1</sup>.

La méthode de détection MS/MS: en mode de résonance avec pour la CLD l'ion parent  $m/z272$  et l'ion fils  $m/z237$  et pour le Métoxychlore l'ion parents  $m/z227$ , avec production d'ions fils de  $m/z 212$  et 196.

### **2.4. Quantification**

La quantification de la CLD dans des échantillons d'eau (2 répétitions) est basée sur une simple comparaison avec une courbe d'étalonnage d'une solution standard de CLD dans de l'eau (0,29 à 10,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). La quantification de CLD pour des échantillons de plantes et du sol a été effectuée en utilisant la méthode des ajouts. Cette méthode compense l'extraction incomplète de la fibre SPME et diminue l'erreur systématique. Nous avons pris en compte le modèle développé par Ai (1997) qui a montré que la mesure quantitative après extraction par SPME est possible même dans les situations de non-équilibre. Puis, par régression linéaire, les concentrations réelles des échantillons solides ont été estimées. Les données sont validées lorsque la régression linéaire calculée à partir de l'aire de pic CLD / aire de pic IS en fonction des concentrations CLD ajoutée des quatre répétitions donne un  $R^2 > 0,995$ .

### **2.5. Test de la méthode**

La méthode a ensuite été validée sur 70 échantillons Andosol avec différents niveaux d'argile amorphe (d'allophane ?) et différents teneurs en matières organiques selon deux méthodes: La méthode proposée dans notre laboratoire et celle du Laboratoire Départemental de la Drôme (LDA26).

Enfin, nous avons comparé la méthode de quantification proposée avec une méthode identique (SPME/GC-MS) mais avec comme étalon interne le CLD-C<sub>13</sub> (CIRAD de Montpellier).

### **3. Résultats et discussion**

#### **3.1. Limites de détection et de quantification de la CLD**

La limite de détection dans l'eau est de (LOD-MS/MS-eau) est égale à  $0,5 \text{ ng.L}^{-1}$  alors que la limite de détection sur Andosol (LOD-MS/MS-sol) déterminée dans la suspension de l'eau est égale à  $15 \text{ ng.kg}^{-1}$  de matière sèche. Les limites de quantification sont dans l'eau (LOQ-MS/MS-eau) égale à  $2,0 \text{ ng.L}^{-1}$  et dans les sols (LOQ-MS/MS-sol) égale à  $80 \text{ ng.kg}^{-1}$  de matière sèche (avec  $S/N = 10$ ).

Ces données montrent qu'il est possible de mesurer une contamination en CLD dans l'eau sous le niveau de la limite maximale de résidus (LMR) (norme européenne  $\text{LMR} \leq 0,05 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  dans l'eau, Reg (CE) n ° 839/2008), et c'est aussi le cas pour les plantes et les échantillons de sol.

Il est à noter que ces limites sont obtenues avec une courte durée d'extraction de la CLD par la fibre SPME (10 min). On pourrait espérer des limites plus basses avec des temps d'extraction plus longs.

#### **3.2. Méthodes de quantification pour les plantes (racines d'ananas) et les échantillons de sol**

##### **3.2.1. Hypothèse pour la quantification**

La quantification de la contamination de l'échantillon est basée sur l'addition de quantités connues d'une solution étalon de CLD. Nous supposons que l'affirmation de  $A_i$  [4], est aussi valable pour la mesure de la CLD dans une suspension aqueuse d'un échantillon solide, où la source de la contamination est la phase solide (de la matière organique ou du sol).

Par conséquent, dans la suspension, le rapport entre la CLD adsorbée sur l'échantillon solide et la CLD libérée dans la suspension dans l'eau est le même pour la CLD ajoutée (augmentation des quantités de solution standard) et la CLD provenant de l'échantillon. Si cette hypothèse est vraie, la mesure quantitative de la contamination CLD de l'échantillon solide en suspension de l'eau devrait être possible dans nos conditions de préparation de l'échantillon.

##### **3.2.2. Quantification de la contamination en CLD des sols et des échantillons de racines de la plante**

Dans un Andosol, la contamination CLD a été estimée avec l'équation d'une régression linéaire de la forme  $y = ax + b$ , où  $y = \text{rapport CLD} / \text{IS}$  et  $x = \text{concentrations de CLD ajoutés}$ ,  $a = \text{pente}$  et  $b = \text{ordonnée à l'origine sur l'axe Y}$

(Figure 1). La contamination en CLD est exprimée ensuite en  $\text{mg.kg}^{-1}$  de matière sèche.

Ce calcul appliqué aux racines d'ananas pour deux quantités différentes d'échantillon a donné une contamination en CLD de  $27,2 \pm 2,4 \text{ mg.kg}^{-1}$  et de  $29,6 \pm 2,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Ces deux valeurs sont cohérentes avec celle du LDA26,  $30,0 \text{ mg.kg}^{-1}$  ( $\pm 30\%$ ) (extraction avec un solvant à chaud).

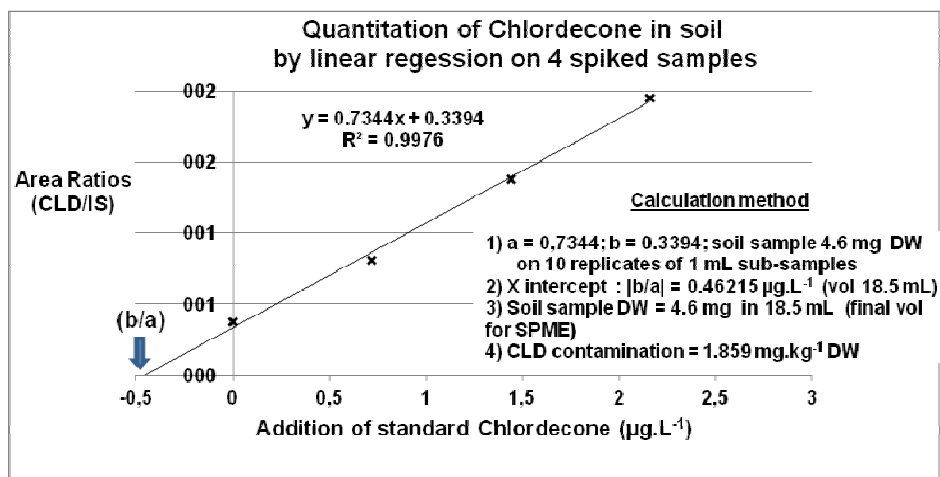


Figure 1: Détermination de la contamination en CLD dans les andosols par SPME / GC-MS/MS.

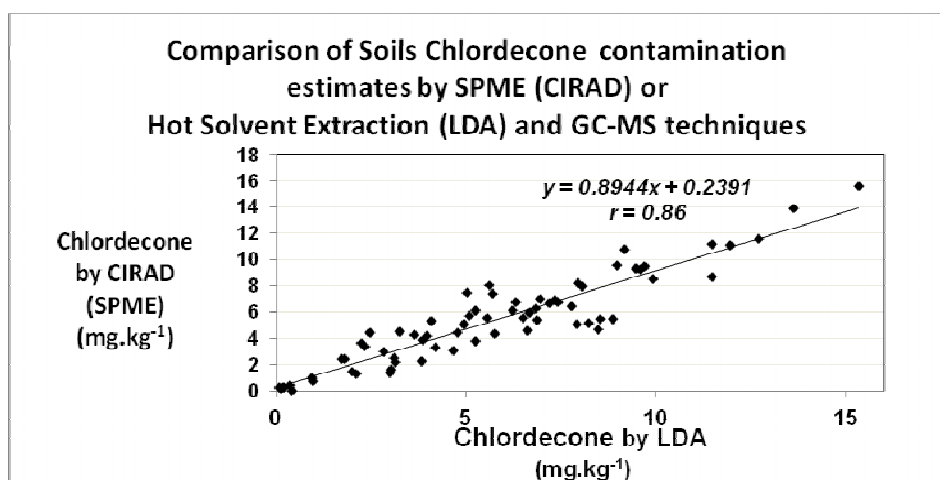


Figure 2: Comparaison de l'analyse de 70 andosols avec la méthode du LDA26 et la méthode SPME GC-MS/MS

### **3.3. Validation de la méthode**

#### **3.3.1. Comparaison des analyses de sol en utilisant la méthode proposée et la méthode normalisée.**

Soixante-dix échantillons d'andosols ont été analysés et quantifiés par le CIRAD en Martinique et le LDA26 en Métropole. Le coefficient de corrélation entre les deux ensembles de données (Figure 2) ( $r = 0,86$ ) est très encourageant si l'on tient compte du fait que ces données représentent des traces et que la précision de l'analyse CLD est d'environ 30%.

#### **3.3.2. Comparaison des analyses de sol en utilisant la méthode proposée et une méthode SPME avec le CLD C<sub>13</sub> comme standard interne.**

Des mesures ont été obtenues à partir d'échantillons de sol (contamination variant entre 0,2 et 9,7 mg.kg<sup>-1</sup>) en utilisant deux techniques SPME / GC-MS/MS et leur mode de calcul associé: La première avec comme étalon interne le Métoxychlore et avec un calcul basé sur les ajouts dosés par le CIRAD Martinique et la seconde avec comme étalon interne la CLD-C<sub>13</sub> par le CIRAD Montpellier.

La bonne corrélation ( $r = 0,8073$ ) montre que les résultats obtenus avec les deux méthodes sont proches et qu'elles peuvent toutes les deux être utilisées pour des analyses de CLD traces dans des échantillons environnementaux.

Il est intéressant de noter que les deux méthodes ne requièrent pas une extraction exhaustive de la CLD de la matrice. Par conséquent, le pourcentage de récupération n'interfère pas avec la quantification.

### **4. Conclusion**

L'analyse quantitative de la CLD dans des échantillons solides avec une extraction rapide par une fibre SPME est possible si une méthode de calcul approprié est utilisée (ajouts dosés). Les données sont très proches de celles obtenues par le LDA26 avec le solvant d'extraction à chaud, et avec une autre méthode SPME utilisant CLD-C<sub>13</sub> comme étalon interne, pour des échantillons de plantes et de sol. Les limites de détection et la quantification sont similaires à celles de la littérature utilisant le même type de technologie (CG-MS ou CG-MS/MS).

La méthode proposée simplifie grandement le protocole de la mesure de la CLD dans des échantillons d'eau, de plantes et de sol. Tout d'abord, les procédures d'échantillonnage et de sous-échantillonnage ne nécessitent pas de séchage complet de grands volumes. Seuls quelques milligrammes de l'échantillon doivent être séchés pour les calculs de poids sec. Ensuite, la procédure d'extraction par SPME de 10 min juste avant l'injection dans la GC est courte et ne nécessite pas de solvant, ni un nettoyage supplémentaire de l'extrait. Troisièmement, la méthode des ajouts dosés avec calcul de l'ordonnée à l'origine nécessite quatre analyses par échantillon, ce qui

représente à la fois ses répliqués et la courbe de référence de l'analyse. Autre avantage avec cette méthode, il n'est pas nécessaire de faire d'autres analyses afin de déterminer le pourcentage de récupération de chaque échantillon. Une nouvelle calibration serait sans doute nécessaire pour l'extraction de la CLD par SPME à partir d'échantillons d'animaux en raison du caractère lipophile de ce pesticide.

La contamination des sols par le CLD dans les Antilles françaises est prévue pour durer des siècles en raison de la lente libération de la CLD dans l'environnement. Les problèmes environnementaux causés par la CLD ne sont pas limités aux Antilles Françaises, mais concernent de nombreux pays africains et européens, même si ils ne sont pas encore mis en lumière. Cette méthode, qui est assez facile à mettre en œuvre, sera d'une grande aide dans les études pour mieux comprendre et maîtriser la pollution de l'environnement par la CLD.

### **Bibliographie**

- Ai, J. 1997. Solid Phase Microextraction for Quantitative Analysis in Nonequilibrium Situations. *Anal Chem.* 69,1230-1236.
- AFNOR, Effet des matériaux sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine - Matériaux organiques - Partie 2 : méthode de mesure des micropolluants minéraux et organiques. Norme AFNOR XP P41-250-2 2001.
- Bristeau S., Ghestem J.P., Résultats de l'essai interlaboratoires chlordécone et chlordécone-5b-hydro dans les eaux de surface continentales et eaux souterraines. Rapport final – Rapport AQUAREF- RP-61916-FR. BRGM, 2012.
- Cabidoche, Y.M., Achard, R., Cattan, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F., Sansoulet, J. 2009. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. *Environ Pollut.* 157, 1697-1705.
- Multigner, L., Ndong, J.R., Giusti, A., Romana, M., Delacroix-Maillard, H., Cordier, S., Jégou, B., Thome, J.P., Blanchet, P. 2010. Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J Clin Oncol.* 28, 3457-3462.
- Ostroukhova, O., Zenkevich, I. 2006. A comparison of the external standard and standard addition methods for the quantitative chromatographic determination of pesticide concentrations in plant samples. *J. Anal. Chem.* 61 442-451.
- Ramdine, G., Lemoine, S., 2008. Anthropogenic contaminations in the mangrove of Guadeloupe (Lesser Antilles): use of a Biomarker of genotoxicity for monitoring., *Proceedings of the 61st Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, November 10 - 14, Gosier, Guadeloupe, French West Indies,.

Soler A., Lebrun M., Labrousse Yoan, Woignier T.

Quantification de la chlordécone dans l'eau, les sols et les plantes par micro-extraction en phase solide et chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse (SPME/GC-MS & MS/MS).

In : Devault D. (ed.), Macarie Hervé (ed.), Feliot-Rippeault M. (ed.), Couderchet M. (ed.). Protection des cultures et santé environnementale : héritages et conceptions nouvelles.

Muizon : Ed. du GFP, 2015, p. 20-26.

ISBN 978-2-9545611-4-1 Congrès du Groupe Français des Pesticides, 44., 2014/05/26-29, Schoelcher