



HAL
open science

Nouvelles méthodes d'analyse des produits de transformation de la chlordécone afin d'étudier les capacités du vivant à attaquer ce pesticide récalcitrant

Déborah Martin

► To cite this version:

Déborah Martin. Nouvelles méthodes d'analyse des produits de transformation de la chlordécone afin d'étudier les capacités du vivant à attaquer ce pesticide récalcitrant. Chimie analytique. Université Paris-Saclay, 2023. Français. NNT : 2023UPASL093 . tel-04813453

HAL Id: tel-04813453

<https://theses.hal.science/tel-04813453v1>

Submitted on 2 Dec 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Nouvelles méthodes d'analyse de la chlordécone et de ses produits de transformation afin de comprendre les capacités du vivant à dégrader ce pesticide récalcitrant

New methods of analysis of chlordacone transformation products to study the ability of living organisms to attack this recalcitrant pesticide

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 577

Structure et dynamique des systèmes vivants (SDSV)

Spécialité de doctorat : Science de la vie et de la santé

Graduate School : Sciences de la vie et santé. Référent : Université Evry-Val-d'Essonne

Thèse préparée dans l'unité de recherche Génomique métabolique (Université Paris-Saclay, CNRS, CEA), sous la direction de **Pierre-Loïc SAAIDI**, HDR

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 07 Novembre 2023, par

Déborah MARTIN

Composition du Jury

Membres du jury avec voix délibérative

Pierre Benoit Directeur de recherche, INRAE	Président
Hélène Budzinski Directrice de recherche CNRS, Université de Bordeaux	Rapportrice
Maria-Elena Gomez-Hernandez Professeure, Université de Montpellier	Rapportrice
Damien Devault Maître de Conférences, Université de Mayotte	Examineur
Mailie Saint-Hilaire Responsable R&D chimie, Institut Pasteur Guadeloupe	Examinatrice

Remerciements

Après (presque) quatre années au sein du Genoscope et de multiples rebondissements, ma thèse touche à sa fin. J'écris ces quelques lignes pour remercier toutes les personnes qui m'ont aidées et soutenues durant ma thèse.

Dans un premier temps, je souhaite remercier mon jury d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse. Je remercie Dr. Hélène Budzinski et Pr. Elena Gomez d'avoir accepté d'en être rapportrices. Merci à Dr. Mailie Saint-Hilaire, Dr. Damien Devault et Dr. Pierre Benoit d'avoir assistés à ma soutenance de thèse en qualité d'examineurs. Nos échanges lors de cette soutenance ont été très enrichissants pour moi et m'ont permis d'améliorer ce manuscrit de thèse.

Je souhaite également remercier mon comité de suivi individuel, Chantadary Intavong et Gabriel Munoz, pour leur soutien sans faille et nos discussions très enrichissantes. Votre grande implication ainsi que votre disponibilité m'ont été fortement précieuses.

Je remercie également Véronique de Berardinis et Patrick Winker de m'avoir permis de réaliser ma thèse au sein du Genoscope et d'avoir toujours soutenu mes recherches au travers la présentation de mes résultats dans différents congrès.

Je tiens à remercier grandement mon directeur de thèse, Pierre-Loïc Saaidi, de m'avoir fait confiance pour intégrer son équipe en tant que doctorante en 2019. Je te remercie pour tout le savoir que tu m'as transmis durant ces quatre années. Nos (très) longues et nombreuses réunions ont été très enrichissantes et tes multiples idées nous ont permis d'avoir aujourd'hui des résultats intéressants pour la suite du projet. À travers toutes nos discussions, j'ai pu développer une grande rigueur scientifique grâce à ton œil avisé ainsi qu'une assurance que je n'avais pas en arrivant au Genoscope. J'espère de mon côté avoir amélioré ton appréciation de la chimie analytique.

Un grand merci à Delphine Muselet qui a toujours su me soutenir d'un point de vue professionnel et personnel. Nos quatre bras nous ont permis de venir à bout de (presque) tous les échantillons. Merci pour ton sourire, ta bonne humeur, ta volonté et ta gentillesse. Je te souhaite bon courage pour la suite des extractions, des maintenances des GC et de la vaisselle. Merci d'avoir eu ce rôle si important pour moi et pour tous les services que tu m'as rendus.

Je voudrais prendre le temps de spécialement remercier Laurine et Briec avec qui j'ai partagé le bureau des doctorants. Merci pour votre soutien, pour votre aide pour faire ma nombreuse vaisselle, pour les nombreux moments de rire que nous avons partagés, de bonne humeur, mais aussi de votre

dans les moments plus compliqués de doutes. Vous avez été des collègues et des amis géniaux. Merci d'avoir supporté mon côté bavarde ainsi que mes anecdotes toujours plus farfelues.

Je remercie également toutes les personnes de l'ENSAIA de Nancy qui ont collaboré étroitement avec moi pour la partie méthanisation de la chlordécone. Perla, merci pour ton immense gentillesse lors de ces derniers mois, pour tous les cafés qui m'ont fait tenir et toutes ces attentions si touchantes. Merci également à Yves, pour ta grande disponibilité pour m'expliquer la statistique ou encore la méthanisation. Merci pour ton optimisme et tes encouragements. Une pensée également pour Cyril qui a été une grande source de motivation pour ce projet.

Je remercie également toutes les personnes qui m'ont soutenu durant cette thèse : Hussein, Océane, Humbeline, Marion, Nina, Oriane, Julie, Chloé, Romuald, Yasmeen, Clément, tous mes collègues du 1^{er} étage, sans oublier Nicole.

Enfin, je souhaite remercier ma famille en commençant par mes parents qui m'ont toujours soutenu dans mes études, mon frère et ma sœur pour leur grand soutien, ainsi que Mamie Marguerite pour tous tes conseils et encouragements. Merci également à ma belle-famille qui m'a grandement encouragée et soutenue.

Enfin, merci à toi Hugo.

Phinally Done

Tables des matières

Remerciements	3
Tables des matières	5
Liste des figures	9
Liste des tableaux	12
Listes des figures et tableaux annexes	13
Glossaire	21
Introduction générale	24
- Chapitre 1 - État de l'art : Utilisation, dégradation et occurrence de la chlordécone et de ses dérivés dans l'environnement et dans des matrices biologiques	26
1. La chlordécone et ses dérivés.....	27
1.1 Nomenclature historique.....	27
1.2 Propriétés physico-chimiques.....	27
1.3 Synthèse de la chlordécone.....	28
1.4 Les dérivés de la chlordécone.....	29
1.5 État des lieux de la pollution environnementale et des ressources alimentaires.....	30
1.5.1 Contamination de la James River.....	30
1.5.2 Contamination des Antilles françaises.....	32
1.5.2.1 Historique de l'utilisation de la chlordécone aux Antilles françaises.....	32
1.5.2.2 Affinités de la chlordécone pour la matière organique.....	32
1.5.2.3 Transfert de la chlordécone dans les différents compartiments environnementaux.....	33
1.5.3 Bioaccumulation et bioamplification dans la chaîne trophique.....	35
1.6 Toxicité de la chlordécone chez l'Homme.....	37
1.6.1 Toxicité aiguë.....	37
1.6.2 Toxicité à la suite d'une exposition chronique aux Antilles.....	38
1.7 Transformation de la chlordécone et ses dérivés.....	39
1.7.1 Dégradations chimiques.....	39
1.7.1.1 Dégradation photochimique.....	39
1.7.1.2 Dégradation à l'aide du fer.....	39
1.7.1.3 Dégradation à l'aide de la vitamine B ₁₂	40
1.7.2 Métabolisation chez les mammifères et l'Homme.....	41
1.7.3 Transformations microbiologiques.....	43
2. Méthodes analytiques pour le dosage d'organochlorés.....	45
2.1 Généralités sur les organochlorés.....	46
2.2 Méthodes d'extraction pour les organochlorés.....	48
2.2.1 Méthodes d'extraction des matrices solides.....	48
2.2.1.1 Extraction solide-liquide simple.....	48
2.2.2 Extraction Soxhlet.....	49
2.2.2.1 Extraction par liquide pressurisé.....	50
2.2.2.2 Extraction QuEChERS.....	52
2.2.2.3 Extraction assistée par micro-ondes.....	53
2.2.2.4 Extraction par fluide supercritique.....	54
2.2.2.5 Extraction assistée par ultrasons.....	56
2.2.2.6 Comparaisons des méthodes d'extraction.....	57
2.2.3 Extraction des matrices liquides.....	58
2.2.3.1 Extraction liquide-liquide.....	58
2.2.3.2 Extraction sur phase solide.....	58
2.2.3.3 Micro-extraction sur phase solide.....	60
2.2.4 Les échantillonneurs passifs ou POCIS.....	62
2.3 Les méthodes de purification.....	63
2.3.1 La partition liquide-liquide.....	63
2.3.2 La filtration.....	63

2.3.3	La chromatographie comme étape de purification.....	64
2.3.3.1	La chromatographie sur colonne	64
2.3.3.2	La chromatographie par perméation de gel	64
2.3.3.3	Extraction sur phase solide	65
2.3.3.4	Micro-extraction sur phase solide.....	66
2.4	Méthodes d'analyse pour les organochlorés	66
2.4.1	Chromatographie en phase gazeuse	66
2.4.2	Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons ..	67
2.4.3	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	68
2.4.4	Chromatographie en phase liquide	72
2.4.5	Chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse	72
3.	Méthodes analytiques pour le dosage de la chlordécone et de ses dérivés.....	75
3.1	Analyse des matrices liquides.....	75
3.1.1	Méthode d'analyse pour les matrices biologiques.....	75
3.1.1.1	Dans le sang	75
3.1.1.2	Dans les urines	80
3.1.2	Méthode d'analyse pour l'eau	80
3.2	Analyses des matrices solides.....	84
3.2.1	Méthodes d'analyses dans les sols et les sédiments.....	84
3.2.2	Méthode d'analyse pour les matrices solides d'origine animale	88
3.2.2.1	Dans les fèces.....	88
3.2.2.2	Dans le foie.....	88
3.2.2.3	Autres matrices	89
4.	Conclusion de l'état de l'art et objectifs de la thèse.....	90
- Chapitre 2 - Mise en évidence d'une dégradation de la chlordécone en conditions méthanogènes grâce aux dosages de la chlordécone et de ses PTs		94
1.	Résumé	96
2.	Abstract.....	98
3.	Introduction	98
4.	Materials and methods:	101
4.1	Chlordecone and its transformation products used as standards.....	101
4.2	Preparation and incubation of chlordecone-supplemented digestates.....	101
4.3	QuEChERS extraction of chlordecone and its transformation products from the digestate....	102
4.4	GC-MS analysis.....	103
4.5	LC-HRMS analysis.....	103
4.6	Quantification procedure and evaluation of its performances	104
5.	Results and Discussion	105
5.1	Selection of targeted transformation products.....	105
5.2	Development of a QuEChERS protocol suited to the digestate matrix	106
5.3	Anaerobic digestion and chlordecone degradation.....	107
5.3.1	Monitoring of pH, redox potential, and biogas production during anaerobic digestion	107
5.3.2	Monitoring of chlordecone under mesophilic and thermophilic conditions	109
5.3.3	Monitoring of the transformation products under mesophilic and thermophilic conditions.....	112
5.3.3.1	Under mesophilic conditions	112
5.3.3.2	Under thermophilic conditions	113
5.3.4	Possible transformation pathways	114
5.4	Fate of chlordecone in anaerobic digestion	115
6.	Conclusion	117
7.	Développement d'un protocole de traitement de données pour l'analyse non-ciblée de composés chlorés.....	117

8.	Conclusion générale et perspectives	121
- Chapitre 3 -	Développement d'un protocole analytique pour la détection des produits de transformation de la chlordécone et d'autres organochlorés dans les eaux de surface et souterraines des Antilles françaises	124
1.	Résumé	126
2.	Abstract.....	128
3.	Introduction	128
4.	Materials and method	130
4.1	Chemicals.....	130
4.2	Environmental water samples collection.....	131
4.3	Development of the SPME procedure	132
4.4	SPME-GC-SIM-MS procedure	132
4.4.1	SPME protocol.....	132
4.4.2	GC-SIM-MS parameters.....	133
4.5	Performances of the SPME-GC-SIM-MS method.....	133
4.6	Other LLE methods applied.....	134
4.6.1	LDA26 protocol.....	134
4.6.2	BRGM protocol.....	134
4.6.3	Genoscope protocol.....	134
5.	Results and discussion.....	135
5.1	Choice of targeted organochlorines	135
5.2	Optimization of GC-SIM-MS method.....	136
5.3	Optimization of SPME procedure	137
5.3.1	Comparison between direct immersion and headspace modes.....	137
5.3.2	Choice of SPME fiber	138
5.3.3	Optimization of SPME parameters with PDMS-DVB fiber	138
5.3.4	Development of a cleaning method for the SPME fiber	141
5.3.5	Choice of the internal standards.....	143
5.4	Evaluation of the performances of the SPME-GC-SIM-MS method	145
5.4.1	CLD and its TPs.....	145
5.4.2	Other OCPs.....	146
5.5	Application to environmental waters	146
5.5.1	Occurrence of chlordecone in environmental waters and comparison of the methods used for its detection.....	146
5.5.2	Occurrence of chlordecol in environmental waters and comparison of the methods used for its detection.....	148
5.5.3	Occurrence of 8-monohydrochlordecone in environmental waters and comparison of the methods used for its detection.....	151
5.5.4	Occurrence of the other transformation products of chlordecone in environmental waters	151
5.5.5	Occurrence of other organochlorines in environmental waters.....	152
5.5.6	Relevance and added value of the present environmental campaign.....	153
6.	Conclusion.....	156
- Chapitre 4 -	Recherche d'un protocole d'analyse pour étudier le devenir de la chlordécone dans les sédiments de la James River	158
1.	Introduction	160
2.	Prélèvement des sédiments.....	162
3.	Protocole d'extraction LLE historique du Genoscope	163
4.	Préparation des échantillons.....	164
4.1	Détermination des profondeurs à analyser à partir de la datation des sédiments.....	164
4.2	Préparation de la matrice de travail	167

5.	Développement du protocole d'extraction QuEChERS	168
5.1	Liste des molécules retenues pour le développement analytique	168
5.2	Choix du solvant d'extraction	169
5.2.1	Choix des sels QuEChERS et du pH d'extraction	170
5.3	Détermination de la quantité d'échantillon analysé.....	171
6.	Développement du protocole de purification post-QuEChERS.....	174
6.1	Extraction sur phase solide dispersive (d-SPE)	174
6.2	Extraction sur phase solide (SPE).....	177
6.3	Micro-extraction sur phase solide	181
7.	Conclusions et perspectives	183
	- Chapitre 5 - Conclusion générale et perspectives	186
1.	Protocoles d'extraction pour les matrices complexes.....	187
1.1	Résumé	187
1.2	Les avantages de la méthode d'extraction QuEChERS	188
1.3	Les inconvénients de la méthode d'extraction QuEChERS rencontrés	188
2.	Protocoles d'extractions pour les matrices liquides	189
2.1	Résumé	189
2.2	Les avantages de la méthode SPME	190
2.3	Les désavantages la méthode SPME.....	190
3.	Récapitulatif des développements analytiques réalisés.....	191
4.	Perspectives	192
	Références	194
	ANNEXES	222
	Annexe S2. Supplementary information of « Efficient biodegradation of the recalcitrant organochlorine pesticide chlordecone under methanogenic conditions »	222
1.	Supporting methods	222
2.	Supporting text.....	222
3.	Supplementary figures	231
4.	Supplementary Tables	246
	Annexe S3. Supplementary Information of « Analysis of chlordecone, its transformation products and several organochlorine pesticides in water from French West Indies by SPME-GC-MS »	260
1.	Supporting methods	260
2.	Supporting text.....	264
3.	Supporting figures	265
4.	Supporting tables	289
	Annexe S4. Informations supplémentaires de « Recherche d'un protocole d'analyse pour étudier le devenir de la chlordécone dans les sédiments de la James River »	310
1.	Figures supplémentaires.....	310
2.	Articles Della-Negra et al. (2020), <i>Scientific Reports</i>	312
3.	Tableaux supplémentaires	326

Liste des figures

Figure 1.1 Représentation de la molécule de chlordécone sous sa forme cétone.....	27
Figure 1.2. Équilibre entre la forme cétone/forme anhydre (à gauche) et la forme gem-diol/forme hydrate (à droite).....	28
Figure 1.3. Schéma de la synthèse de la chlordécone.....	29
Figure 1.4. Représentation de la molécule de mirex (à gauche) et du Kelevan (à droite)	30
Figure 1.5. Distribution de la concentration en CLD en ppb ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) dans les sédiments de la James River en octobre et décembre 1976 (Trotman et Nichols, 1978).....	31
Figure 1.6. Évolution de la concentration de CLD dans les poissons provenant de la James River de 1976 à 2002 (Luellen et al., 2006) ; perch = perche, bass = bar.....	31
Figure 1.7. Schématisation de la distribution de la CLD dans l'environnement depuis les bassins versants vers les nappes souterraines et l'eau de rivière (CIRAD, 2018).....	34
Figure 1.8. Concentration en CLD dans différentes sources de matière et différents organismes marins vivant dans les algues marines (Seagrass beds), SOM : matière organique en suspension, HB : herbivores, CA1 : mangeurs d'invertébrés, CA2 : mangeurs de poissons et d'invertébrés, PV : piscivores (Dromard, Devault, et al., 2022)	36
Figure 1.9. Représentation de la vitamine B12 sous ses différentes formes (Giedyk et al., 2015).....	41
Figure 1.10. Voie de métabolisation de la CLD chez l'Homme proposée par Fariss et al., 1980	42
Figure 1.11. Schéma récapitulatif du devenir de la CLD par (bio)dégradation et de la biotransformation avec l'obtention de plusieurs produits de transformation en fonction des conditions utilisées. Une couleur a été assignée pour chaque famille de PTs.....	45
Figure 1.12. Schéma de l'extracteur Soxhlet (López-Bascón & Luque de Castro, 2020)	49
Figure 1.13. Schéma de l'extraction ASE (Richter et al., 1996)	50
Figure 1.14. Schéma de l'extraction QuEChERS et de l'étape de purification par d-SPE (Casado et al., 2022).....	52
Figure 1.15. Diagramme de phase pression-température du CO ₂ (Bouchet Bert-Manoz, 2014).....	55
Figure 1.16. Phénomènes de compression et de raréfaction observés lors d'une extraction assistée par ultrasons (Rutkowska et al., 2017).....	56
Figure 1.17. Schéma d'une extraction sur phase solide d'après Humbert, 2010.....	59
Figure 1.18. Schéma de l'extraction SPME se déroulant : (A) en espace de tête et (B) en immersion directe suivie d'une désorption thermique en GC (C) ou en désorption par solvant en LC (D), d'après Kataoka et al., 2000.....	61
Figure 1.19. Schéma d'un dispositif POCIS, d'après Godlewska et al., 2021	62
Figure 1.20. Schéma du fonctionnement de la chromatographie de perméation de gel (Tessier, 2018).....	65
Figure 1.21. Schéma d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse (Tranchant, 1996).....	66
Figure 1.22. Schéma de l'ionisation par impact électronique (EI) (Menet, 2011)	69
Figure 1.23. Schéma d'une ionisation chimique (IC) (« Chemical Ionization », 2023)	69
Figure 1.24. Schéma d'un analyseur de spectrométrie de masse (Rondeau, 2017)	70

Figure 1.25. Schéma d'un montage de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) (McLafferty, 1981)	71
Figure 1.26. Schéma d'une source APCI (Rondeau, 2007)	73
Figure 1.27. Schéma d'une source APPI (Rondeau, 2017)	74
Figure 1.28. Schéma d'une source ESI (Rondeau, 2017)	75
Figure 1.29. Schéma explicatif des expériences réalisées dans le cadre de ma thèse	92
Figure 2.1. Overview of the seven families of chlordecone's transformation products. For clarity, only higher chlorinated congeners are displayed. For a complete list, refer to the following references: Fariss et al., 1980; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Lomheim et al., 2020, 2021; Hellal et al., 2021.	106
Figure 2.2. Monitoring of the average biogas production (mL.g-1VS) in bottles incubated with (CLD+) and without chlordecone (CLD-) under both mesophilic and thermophilic conditions, after 40 days of incubation. The error bars represent the standard errors of the calculated means	109
Figure 2.3. Evolution of CLD concentrations under mesophilic conditions (37.5°C) (A) and under thermophilic conditions (B) at different incubation times in LC-HRMS; error bars represent standard errors of the calculated means (n=6 composed of 3 biological replicates, each divided into two replicates further extracted and analyzed); blue intervals represent the comparison between two times; • = 0.1 < Tukey's HSD p-value < 0.05; * = 0.05 < p-value < 0.001; ** = 0.001 < p-value < 0.0001; *** = p-value < 0.0001; ns = not significant. For detailed values see Table S17 and Table S18.	110
Figure 2.4 Monitoring of several transformation products of CLD under (A) mesophilic and (B) thermophilic conditions: A1, dihydroCLDs, C1/C2, and C3/C4 analyzed in LC-HRMS and B1, B2 (only detected for thermophilic), and B3/B4 analyzed in GC-MS. The error bars refer to standard errors (n=6). A2, CLDOH, and F1 were below LOD and were not shown here. For detailed values see Table S17 and Table S18.	113
Figure 2.5. Mass balance of CLD degradation in mesophilic (A) and thermophilic (B) conditions from the quantification of CLD and its TPs (in GC-SIM-MS for family B and in LC-HRMS for CLD and families A and C); the error bars refer to the standard errors (n=6), the dashed lines represent the error around the initial theoretical CLD concentration supplemented in the digestate. Only concentrations above the LOQ are presented	116
Figure 2.6. Schéma représentant la conversion des données acquises en mode profile en mode centroïde (Renner & Reuschenbach, 2023)	119
Figure 2.7. Modèles théoriques de profils isotopiques caractéristiques de la présence de un à dix atomes de chlore dans une molécule, d'après LaBrosse & Anderegg, 1984	120
Figure 3.1. Representation of 31 targeted OCs. *: Chlordecthiol, initially included in the set of OCs, was later excluded due to unsatisfactory results during SPME optimization; Surrounded compounds were detected in the 30 studied FWI environmental waters.	135
Figure 3.2. Total ion chromatogram obtained by SPME-GC-SIM-MS (not optimized method) of the targeted organochlorines at 1 µg.L ⁻¹ in water. For HCB and its TPs (blue): 3 = MCB; 4 = 1,3-DCB; 5 = 1,4-DCB; 6 = 1,2-DCB; 7 = 1,3,5-TCB; 8 = 1,2,4-TCB; 9 = 1,2,3-TCB; 11 = 1,2,3,5-TeCB; 12 = 1,2,4,5-TeCB; 13 = 1,2,3,4-TeCB; 14 = PCB; 15 = HCB. For HCH (grey): 16 = α-HCH; 19 = β-HCH; 20 = γ-HCH/lindane and 2 = δ-HCH. For CLD and its TPs (purple): 17 = B3/B4; 18 = B2; 22 = B1; 25 = A2; 26 = A1; 27 = CLD; 28 = -1Cl-CLDOH; 29 = CLDOH and F1 = 31. For others (yellow): 1 = TCE; 2 = PCE; 10 = HCBd; 21 = aldrin; 24 = dieldrin and 30 = mirex	137
Figure 3.3. Responses in SPME-GC-SIM-MS for CLD and its derivatives with varying parameters: a) the SPME coating fiber (all concentrations set at 100 µg.L ⁻¹), b) the extraction temperature (all concentrations	

set at 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), c) the extraction time (all concentrations set at 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), d) the desorption time (all concentrations set at 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), e) the desorption temperature (all concentrations set at 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$) and f) the addition of NaCl (all concentrations set at 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$). Error bars refer to standard errors (n=3), < LOD: not detected.....	140
Figure 3.4. CLD carryover observed on the SPME fiber: a) carryover after an initial injection of CLD at 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (number 0) followed by blank samples (individual vials containing water:MeOH (50/50)) with the same method and b) effect of the composition of the blank samples on the CLD carryover.....	142
Figure 3.5. Chemical conditions enabling the synthesis of CLDOH-d, CLDOH-Me, and -1Cl-CLDOH-Me (Annexe 3. Supplementary Methods M3-5).	144
Figure 3.6. Comparison of concentrations in environmental waters obtained for: a) CLD for BRGM vs. Genoscope b) CLD for LDA26 vs. Genoscope, c) CLD for LDA26 vs. BRGM, d) A2 for BRGM vs. Genoscope, e) A2 for LDA26 vs. Genoscope and f) A2 for LDA26 vs. BRGM. Black lines correspond to an uncertainty of 20 % for CLD (a) and 30 % for A2 (d) for BRGM and 30 % for LDA26 (b,c, e, and f). Error bars correspond to the standard deviation for Genoscope (n = 2; a, b, d, and e) and the uncertainty of 30 % estimated for BRGM (c).	147
Figure 3.7. Time-average concentrations of CLD TPs and other OCs determined by SPME-GC-SIM-MS for: a) river waters from Martinique, b) river waters from Guadeloupe, c) spring waters from Guadeloupe and d) well waters from Guadeloupe. Shaded boxes indicate the absence of compounds (< LOD). ...	155
Figure 4.1. Localisation des prélèvements des carottes de sédiments dans l'estuaire de la James River (Virginie, États-Unis).	162
Figure 4.2. Datation des sédiments par le dosage du ^{137}Cs dans les différentes profondeurs des six carottes : a) carotte n°1, b) carotte n°2, c) carotte n°3, d) carotte n°4, e) carotte n°5 et f) carotte n°6. dmp : désintégration par minute (1/60 Bq).	166
Figure 4.3. Réponse des composés (log10) supplémentés à 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (sauf F1 à 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) en fonction du solvant d'extraction utilisé, acétonitrile ou hexane/acétone (85:15) suivi d'une analyse en GC-SIM-MS (n = 3). Voir Tableau S4.5 pour les paramètres détaillés du protocole.....	170
Figure 4.4. Réponse des composés (log10) supplémentés à 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (sauf F1 à 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) en GC-SIM-MS après extraction QuEChERS selon les quatre conditions testées (n=3). Voir Tableau S4.5 pour les paramètres détaillés du protocole.	171
Figure 4.5. Schéma du protocole QuEChERS appliqué pour l'extraction de : a) 2 g et b) 6 g de sédiments	172
Figure 4.6. Réponse des composés supplémentés à 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ rapportée à la réponse du pentachlorobenzène (PCB, standard d'injection, 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ finale) en fonction de la quantité de sédiments extraite (2 g vs 6 g) analysés en GC-SIM-MS (n=3). nd : non détecté, * : détecté dans un seul réplica. Voir Tableau S4.5 pour les paramètres détaillés du protocole.	173
Figure 4.7. Schéma du protocole QuEChERS final retenu pour l'extraction de la CLD et ses PTs dans les sédiments de la James River.....	174
Figure 4.8. Schéma du protocole réalisé pour comparer les différents sorbants de d-SPE.....	175
Figure 4.9. Extraits purifiés par différents sorbants actifs d-SPE et un contrôle sans ajout de sorbant actif (MgSO_4 seul) à la suite d'une extraction QuEChERS de la matrice de travail constituée de la carotte n°6. Les proportions de d-SPE sont disponible à la Figure 4.8.....	176
Figure 4.10. Réponse des composés (log10) supplémentés à 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en GC-SIM-MS en fonction de la d-SPE utilisée (n=2). Protocole détaillé à la Figure 4.8.	176
Figure 4.11. Liste des principales étapes du développement d'un protocole SPE	177

Figure 4.12. Somme des aires des composés des trois premières éluions successives de 5 ml en fonction du solvant obtenues en LC-HRMS pour la CLD et en GC-MS pour F1 et PCB (n=1).....	180
Figure 4.13. Schéma des différentes étapes du développement de la méthode de purification SPE avec les différentes conditions testées.....	180
Figure 4.14. Rapport S/N des composés supplémentés à 10 µg.kg ⁻¹ pour CLD, A1, B1, CLDOH, mirex et PCB et 20 µg.kg ⁻¹ pour F1 à la suite des protocoles QuEChERS-SPE-GC-SIM-MS et QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS (n=1). Les S/N correspondants sont indiqués au-dessus de chaque histogramme.....	182
Figure 5.1. Schéma récapitulatif des différents protocoles analytiques développés et les composés détectés dans les matrices réelles.....	191

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Illustration de différentes familles de composés organochlorés	47
Tableau 1.2. Récapitulatif des méthodes d'extraction de la chlordécone dans le sang	78
Tableau 1.3. Récapitulatif des méthodes d'extraction de la CLD dans l'eau.....	82
Tableau 1.4. Méthodes d'analyse de la CLD dans les sols et les sédiments.....	86
Tableau 3.1. Performance criteria of the SPME-GC-SIM-MS method for CLD and its main TPs. RSD = Relative standard deviation. n = 3. *: for the lower environmental concentrations of CLD, a dedicated calibration curve ranging from 0-2,500 ng.L ⁻¹ was used (R ² = 0.997; Figure S3.24a).....	146
Tableau 3.2. Comparison of CLDOH concentrations (expressed in µg.L ⁻¹) obtained by the three laboratories for the 31 environmental waters.....	150
Tableau 4.1 Sections des différentes carottes de sédiments retenues pour être analysées suite à la datation du ¹³⁷ Cs.....	167
Tableau 4.2 Analyse des différentes fractions d'éluion en sortie de cartouche SPE après le chargement de 20 ml d'ACN/eau (50:50) supplémenté à 0.2 mg.L ⁻¹ de PCB, 0.4 mg.L ⁻¹ de CLD et 1.2 mg.L ⁻¹ de F1 avec a) 1 g de C18 et b) 4 g de C18. Les analyses ont été réalisées en GC-SIM-MS après une extraction avec 500 µL d'acétate d'éthyle des phases aqueuses. nd : non détecté.....	179

Listes des figures et tableaux annexes

Figure S2.1. Scheme of the anaerobic digestion experiment with and without CLD in mesophilic and in thermophilic conditions.	231
Figure S2.2. Response of CLD and detected TPs in GC-SIM-MS depending on the extracted volume of digestate with same QuEChERS extraction; error bars correspond to standard errors (n=3).....	231
Figure S2.3. Influence of the pH on the extraction efficiencies of CLD and detected TPs in GC-SIM-MS. The error bars refer to the standard errors (n = 3).....	232
Figure S2.4. Examples of scripts for : (A) the analysis of variance (ANOVA) carried out to compare the average of chlordecone concentrations as a function of incubation time (CLD~Trait), (B) Bartlett Test, (C) Shapiro test and (D) Tukey's HSD test. ANOVA was conducted on the independent data after checking the homogeneity of the variances (Bartlett Test, p-value > 0.05) and the normality of the residues (Shapiro-Wilk Test, p-value > 0.05). The Tukey's HSD test was performed to compare the different incubation times in pairs. The following tests were carried out using the R software, version 4.1.0.	232
Figure S2.5. Average pH values obtained at different incubation times in mesophilic conditions in the presence of CLD (Mesophilic/CLD+) and without CLD (Mesophilic/CLD-) taken at around 25 °C, and in thermophilic conditions in the presence of CLD (Thermophilic/CLD+) and without CLD (Thermophilic/CLD-) taken at around 28 °C. At the end of each incubation period, an aliquot of 5 mL was taken from every bottle, out of which the pH was measured using a pHC805 combination glass pH probe (reference Ag/AgCl), calibration was performed at 20 °C prior to measurements; the pH values were noted after stabilization of the measurement. The error bars represent the standard deviation (n=3 biological replicates).....	233
Figure S2.6. Average redox potential values obtained at different incubation times in mesophilic conditions in the presence of CLD (Mesophilic/CLD+) and without CLD (Mesophilic/CLD-), and in thermophilic conditions in the presence of CLD (Thermophilic/CLD+) and without CLD (Thermophilic/CLD-). At the end of each incubation period, an aliquot of 5 mL was taken from every bottle, out of which the redox potential was measured using a Schott PT6280 metal combination electrode (with Ag/AgCl reference electrode); the redox values were noted after stabilization of the measurement. The error bars represent the standard deviation (n=3 biological replicates).....	233
Figure S2.7. Response for a concentration range of 0-4 mg.L ⁻¹ for: (A) A1 and CLD in function of ¹³ C ₁₀ -CLD supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (B) A1 and CLD (m/z 274) dissolved in solvent (hexane/acetone; 85/15) and analyzed in GC-SIM-MS, (C) A1 and CLD (m/z 272) dissolved in solvent (hexane/acetone; 85/15) and analyzed in GC-SIM-MS and (D) A1 and CLD (m/z 274) in function of ¹³ C ₁₀ -CLD supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS.	234
Figure S2.8. Response for a concentration range of 0-4 mg.L ⁻¹ for: (A) lindane vs. B1 supplemented in mesophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (B) hexachlorobenzene vs. B1 supplemented in mesophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (C) pentachlorobenzene (PeCB) vs. B1 supplemented in mesophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (D) B1, B2 and B3/B4 (using PeCB as internal standard) supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS and (E) B1 and B3/B4 (using PeCB as internal standard) dissolved in solvent and analyzed in GC-SIM-MS.	235
Figure S2.9. Response for a concentration range of 0-4 mg.L ⁻¹ for: (A) CLD vs. C1/C2 supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS, (B) carboxyindane vs. C1/C2 supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS, (C) C1/C2 and C3/C4 (using carboxyindane as internal standard) and CLD (using ¹³ C ₁₀ -CLD as internal standard) supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS.....	236

Figure S2.10. Response for a concentration range of 0-4 mg.L ⁻¹ for: (A) CLDOH vs. CLD (m/z 274) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS, (B) CLDOH vs. CLD (m/z 272) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS, (C) F1 vs. CLD (m/z 274) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS, (D) F1 vs. CLD (m/z 272) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS and (E) CLDOH, F1 and CLD (m/z 274) (using ¹³ C ₁₀ -CLD as internal standard) supplemented in thermophilic digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS.	237
Figure S2.11. Example of calibration curves for mesophilic conditions at 0 day for: (A) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS, (B) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in LC-HRMS (range of concentrations 0-20 mg.L ⁻¹), (C) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS (range of concentrations 0-1.1 mg.L ⁻¹) and (D) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-MS (range of concentrations 0-4.4 mg.L ⁻¹).....	238
Figure S2.12. Example of calibration curves for thermophilic conditions at 0 day for: (A) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS, (B) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in LC-HRMS (range of concentrations 0-20 mg.L ⁻¹), (C) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-MS (range of concentrations 0-1.1 mg.L ⁻¹) and (D) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-MS (range of concentrations 0-4.4 mg.L ⁻¹).....	239
Figure S2.13. Venn diagram representing available standards implemented in GC-SIM-MS and/or in LC-HRMS method and compounds detected in AD samples.....	240
Figure S2.14. Evolution of CLD concentrations over time, under thermophilic conditions, modeled with a first order kinetic reaction.....	240
Figure S2.15. Evolution of CLD concentrations over time, under mesophilic conditions, modeled with a zero-order kinetic reaction.....	241
Figure S2.16. Evolution of CLD concentrations over time, under mesophilic conditions, modeled with a first-order kinetic reaction.....	241
Figure S2.17. Modeling of biogas production under mesophilic conditions by: (A) logistic growth model, (B) Gompertz model and (C) exponential fit.....	242
Figure S2.18. Modeling of biogas production under thermophilic conditions by: (A) logistic growth model, (B) Gompertz model and (C) exponential fit.....	243
Figure S2.19. Correlation between CLD concentrations and biogas production under thermophilic conditions.	243
Figure S2.20. Correlation between CLD concentrations and biogas production under mesophilic conditions.	244
Figure S2.21. CLD concentrations under mesophilic conditions (37.5 °C) at different incubation times analyzed in GC-SIM-MS; the error bars represent the standard errors of the calculated means (n=6 composed of 3 biological replicates, each divided into two replicates further extracted and analyzed); the blue intervals represent the comparison between two times :• = 0.1 < Tukey's HSD p-value < 0.05; ns = not significant.	244
Figure S2.22. CLD concentration under thermophilic conditions (55 °C) analyzed in GC-SIM-MS; the error bars refer to the standard errors (n=6 composed of 3 biological replicates, each divided into two replicates further extracted and analyzed); the blue intervals represent the comparison between two times :• = 0.1 < Tukey's HSD p-value < 0.05; * = 0.05 < p-value < 0.001; ** = 0.001 < p-value < 0.0001; *** = p-value < 0.0001; ns = not significant.	245

Figure S3.1. Characterization of CLDOH by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI(+)-MS and b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS	265
Figure S3.2. ¹ H-NMR spectrum of CLDOH in CD ₂ Cl ₂ (600 MHz). CHCl ₃ has been spiked onto the NMR sample to perform the purity estimation according to Supporting Methods M8.....	266
Figure S3.3. Characterization of CLDOH-d by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI(+)-MS, b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS and c) extract mass spectrum from infusion in ESI(-)-HRMS.....	267
Figure S3.4. ¹ H-NMR spectrum of CLDOH-d in CDCl ₃ (600 MHz).....	268
Figure S3.5. ¹³ C-NMR spectrum of CLDOH-d in CD ₂ Cl ₂ (150 MHz).....	268
Figure S3.6. Characterization of -1Cl-CLDOH by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI-MS (positive mode) and b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS	269
Figure S3.7. ¹ H-NMR spectrum of -1Cl-CLDOH in CD ₂ Cl ₂ (600 MHz).....	270
Figure S3.8. ¹³ C-NMR spectrum of -1Cl-CLDOH in CD ₂ Cl ₂ (150 MHz)	270
Figure S3.9. HSQC spectrum of -1Cl-CLDOH in CD ₂ Cl ₂	271
Figure S3.10. HMBC spectrum of -1Cl-CLDOH in CD ₂ Cl ₂	271
Figure S3.11. Characterization of CLDOH-Me by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI-MS (positive mode) and b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS	272
Figure S3.12. ¹ H-NMR spectrum of CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂ (600 MHz).....	273
Figure S3.13. ¹³ C-NMR spectrum of CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂ (150 MHz).....	273
Figure S3.14. HSQC spectrum of CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂	274
Figure S3.15. HMBC spectrum of CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂	274
Figure S3.16. Characterization of -1Cl-CLDOH-Me through chromatography coupled to mass spectrometry: a) zoom on the GC-EI(+)-MS chromatogram showing a single peak and b) its associated extracted mass spectrum and c) zoom on the LC-ESI(-)-HRMS chromatogram showing a dual peak reflecting the two diastereoisomers and d) the associated quasi-molecular ion pattern in HRMS	275
Figure S3.17. ¹ H-NMR spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂ (600 MHz).....	276
Figure S3.18. ¹³ C-NMR spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂ (150 MHz)	276
Figure S3.19. HSQC spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂	277
Figure S3.20. HMBC spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD ₂ Cl ₂	277
Figure S3.21. Isotopic patterns of the fragments of CLDOH and CLDOH-d: a) simulated isotopic pattern for [C ₅ Cl ₄ OH ₂] ⁺ • (for CLDOH), b) simulated isotopic pattern for [C ₅ Cl ₄ ODH] ⁺ • (for CLDOH-d), c) extract of experimental mass spectrum obtained in GC-EI(+)-MS for CLDOH, d) extract of experimental mass spectrum obtained in GC-EI(+)-MS for CLDOH-d, e) simulated isotopic pattern modelling the experimental isotopic pattern observed for CLDOH and f) simulated isotopic pattern modelling the experimental isotopic pattern observed for CLDOH-d.....	278
Figure S3.22. Map of Guadeloupe and Martinique islands displaying the locations of surface (in orange) and ground (spring = brown and well = blue) waters sampling stations. The distance between the two islands is not to scale. (https://umap.openstreetmap.fr)	279
Figure S3.23. Response in SPME-GC-SIM-MS for: a) CLDOH-d (<i>m/z</i> 221) vs. CLDOH (<i>m/z</i> 220) in the range of 0-5 µg.L ⁻¹ , b) CLDOH-Me (<i>m/z</i> 234) vs. CLDOH (<i>m/z</i> 220) in the range of 0-1.5 µg.L ⁻¹ and c) -1Cl-CLDOH-Me (<i>m/z</i> 234) vs. CLDOH (<i>m/z</i> 220) in the range of 0-1 µg.L ⁻¹	280

Figure S3.24. Calibration curves obtained in SPME-GC-SIM-MS for: a) CLD in the range of 0-2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, b) CLD in the range of 0-25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, c) A1, d) A2, e) B1 in the range of 0-0.270 $\mu\text{g.L}^{-1}$, f) CLDOH in the range of 0-1.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and g) -1Cl-CLDOH-Me in the range of 0-0.270 $\mu\text{g.L}^{-1}$	281
Figure S3.25. Examples of calibration curves obtained in SPME-GC-SIM-MS for HCB and its TPs, with a) MCB in the range of 0-0.27 $\mu\text{g.L}^{-1}$, b-l) HCB and derivatives in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, HCHs with m-p) HCHs in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and other OCs with q-r) TCE and PCE in the range of 0-0.81 $\mu\text{g.L}^{-1}$, s) HCBd in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, t-v) aldrin, dieldrin and mirex in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$	284
Figure S3.26. Scheme of a typical injection sequence comprising three water samples analyzed in SIM and FS modes, bracketed by two calibration ranges and separated by a number of blanks (MeOH:water, 50/50) depending on the subsequent analyses	285
Figure S3.27. Concentrations expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$ of CLD in: a) river, b) spring and c) well waters from Martinique and Guadeloupe obtained by SPME-GC-SIM-MS (Genoscope), LLE-GC-MS/MS (BRGM) and LLE-LC-MS/MS (LDA26). Error bars correspond to standard deviation for Genoscope (n = 2), uncertainty of 20 % for BRGM and 30 % for LDA26, *= not analyzed	286
Figure S3.28. A1 concentrations expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$ obtained by SPME-GC-SIM-MS (Genoscope) and LLE-GC-MS/MS (BRGM). *: samples from the 2 nd sampling campaign	287
Figure S3.29. Response of CLD, its TPs and mirex supplemented in water for direct immersion (DI-SPME-GC-SIM-MS) and headspace (HS-SPME-GC-SIM-MS) for: a) 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and b) 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$. The extraction procedure was set as follow: after an incubation of the sample at 80 °C for 5 min, the PDMS-DVB fiber was immersed in water (direct immersion) or maintained over the water surface (headspace) for 10 minute. Then, compounds were desorbed from fiber in GC-MS injector for 5 minutes at 270 °C.....	287
Figure S3.30. Abatement rate of CLD, CLDOH, A1 and B1 after 14 or 8 blanks following an analysis of 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ in water with SPME-GC-SIM-MS.....	288
Figure S4.1 Schéma du protocole LLE utilisé pour extraire les sédiments de Martinique pour la recherche du chlordécthiol (Della-Negra et al., 2020).	310
Figure S4.2. Réponse des composés (aire, log10) supplémentés à 100 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en fonction de la d-SPE utilisé. Protocole détaillé à la figure 4.8.	311
Tableau S2.1. Specifications of the mesophilic and thermophilic liquid digestates tested in our experiment. *The thermophilic digestate was obtained from the Methavos unit and left at room temperature for 10 days prior to the launching of the experiment.	246
Tableau S2.2. List of target compounds analysed in GC-SIM-MS with their corresponding retention time (Rt), quantifying and qualifying ions used for SIM mode. For CLD and ¹³ C ₁₀ -CLD, the first m/z was used for analyses of mesophilic conditions and the latter for analyses of thermophilic conditions (in italic). Rt = retention time.	247
Tableau S2.3. List of target compounds analyzed in LC-HRMS with their corresponding retention time (Rt), quantifying and qualifying ions.	247
Tableau S2.4. Summary of the conditions used for the development of the QuEChERS protocol.....	248
Tableau S2.5. Response of CLD and detected TPs in the preliminary experiment, corresponding to a real digestate extracted after 40 days of incubation in mesophilic conditions and analysed in GC-SIM-MS depending on the extraction solvents used for QuEChERS protocol. nd = not detected.	248

Tableau S2.6. Extraction efficiency (%) (n=4) for CLD and its TPs supplemented in mesophilic and thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS for families B and D, F1 and CLDOH and in LC-HRMS for CLD, families A and C. For CLD, the low and high levels correspond to 1 mg.L ⁻¹ and 10 mg.L ⁻¹ , respectively. For the TPs, high concentrations ranged between 0.1 and 1 mg.L ⁻¹ , and the high/low level ratio was set at 4.....	249
Tableau S2.7. Accuracy (%) for CLD and its TPs supplemented in thermophilic digestate at 10 mg.L ⁻¹ for CLD, 1 mg.L ⁻¹ for A1, CLDOH, F1 and family C and 0.75 mg.L ⁻¹ for family B (n=2), extracted and analyzed in GC-SIM-MS and in LC-HRMS.....	249
Tableau S2.8. Estimated limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) in µg.L ⁻¹ for CLD and its TPs supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS and in LC-HRMS; LOQ = 3 x LOD.....	249
Tableau S2.9. R ² values of the three tested models for the modeling of biogas production in mesophilic and thermophilic conditions, in the presence (CLD+) and absence of CLD (CLD-). Bold values correspond of the best fit among the three models for each data set.	250
Tableau S2.10. Obtained p-values of the t-test conducted to compare the adjusted average biogas production in mesophilic and thermophilic digestate supplemented with CLD and the negative controls (without CLD).....	250
Tableau S2.11. ANOVA p-values for the obtained concentrations of each compound with incubation times under thermophilic conditions. *** : p-value < 0.001.....	251
Tableau S2.12. The ANOVA p-values of the obtained concentrations of each molecule with incubation times under mesophilic conditions. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001.....	251
Tableau S2.13. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under thermophilic conditions using GC-MS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.....	252
Tableau S2.14. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under thermophilic conditions using LC-HRMS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.....	253
Tableau S2.15. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under mesophilic conditions using GC-MS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.....	254
Tableau S2.16. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under mesophilic conditions using LC-HRMS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.....	255
Tableau S2.17. Concentrations in mg.L ⁻¹ of CLD and detected TPs in mesophilic conditions depending on the incubation time in GC-MS and in LC-HRMS. Concentrations in italics represent the concentrations <LOQ that were estimated; nd= not detected. Uncertainty corresponds to standard error (n=6).....	256
Tableau S2.18. Concentrations in mg.L ⁻¹ of CLD and detected TPs in thermophilic conditions depending on the incubation time in GC-MS and in LC-HRMS. DihydroCLDs to the sum of the concentrations of the two dihydroCLD detected. Concentrations in italics represent the concentrations <LOQ that were estimated; nd= not detected. Concentrations in Uncertainty corresponds to standard error (n=6).....	256

Tableau S2.19. Concentrations in mg.L ⁻¹ of CLD, A1, B1 and B3/B4 in thermophilic conditions in GC-MS with and without the addition of the strong acidic step during the QuEChERS procedure. Uncertainty corresponds to standard error (n=3).	257
Tableau S2.20. All information for analyses of CLD and its TPs in GC-MS. Rt = retention time.	258
Tableau S2.21. All information for analyses of CLD and its TPs in LC-HRMS. Rt = retention time.	259
Tableau S3.1. Information on the location and dates of samplings for surface and ground (spring and well) waters.....	289
Tableau S3.2. Overview of the optimization process varying fiber type, extraction temperature and time, desorption time and temperature and addition of salts (NaCl)	290
Tableau S3.3. CLD and its TPs monitored in SPME-GC-SIM-MS and their analytical parameters. *: compounds not included as IS or not targeted OC in the final protocol.....	291
Tableau S3.4. List of other organochlorines monitored in SPME-GC-SIM-MS and their analytical parameters.....	292
Tableau S3.5. CLD, its TPs and other organochlorines monitored in LLE-GC-SIM-MS and their analytical parameters.....	293
Tableau S3.6. CLD, its TPs and other organochlorines monitored in LLE-LC-HRMS and their analytical parameters.....	294
Tableau S3.7. Performance criteria of the SPME method for other organochlorines. Calibration curves carried out with 5 points (Fig. S21). RSD = Relative standard deviation; Accuracies with n = 3	295
Tableau S3.8. Abatement ratios between CLD injected at 10 µg.L ⁻¹ in SPME-GC-SIM-MS and CLD detected in blank sample after n blanks varying time of incubation, desorption, washing and conditioning of the fiber. Bold green text corresponds to the selected conditions	296
Tableau S3.9. Summary of OCs targeted by LDA26 and BRGM with analytical methods used and estimated LOQ in ng.L ⁻¹ . na: not analyzed	297
Tableau S3.10. CLD concentrations (expressed in µg.L ⁻¹) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS (Genoscope, n = 1), with LLE-GC-MS/MS (BRGM) and with LLE-LC-MS/MS (LDA26). For BRGM and LDA26, uncertainties were set at 20 % and 30 % (n = 1), respectively; na: not analyzed; nd: not detected	298
Tableau S3.11. A1 concentrations (expressed in µg.L ⁻¹) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS (Genoscope, n = 1) and with LLE-GC-MS/MS (BRGM). For BRGM, n = 1; na: not analyzed; < LOQ: < 0.010 µg.L ⁻¹ ; nd: not detected; *: detected in one sample only	299
Tableau S3.12. A2 concentrations (expressed in µg.L ⁻¹) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS (Genoscope, n = 1), with LLE-GC-MS/MS (BRGM) and with LLE-LC-MS/MS (LDA26). For BRGM and LDA26, uncertainties were estimated at 30 % (n = 1); na: not analyzed; nd: not detected	300

Tableau S3.13. CLDOH concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1), with LLE-MS/MS (BRGM) and with LLE-LC-MS/MS (LDA26). For BRGM and LDA26, uncertainties were set at 30 % (n = 1); na: not analyzed, nd: not detected	301
Tableau S3.14. 10-monohydroCLDOH concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; < LOQ: < 0.010 $\mu\text{g.L}^{-1}$; nd: not detected	302
Tableau S3.15. B1 concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2) and LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; < LOQ: < 0.009 $\mu\text{g.L}^{-1}$; nd: not detected; nd: not detected; *: only detected in the first replicate sample.....	303
Tableau S3.16. B2 concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2) and LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; nd: not detected.	304
Tableau S3.17. B3/B4 concentrations in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2) and LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; nd: not detected	305
Tableau S3.18. Dieldrin concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1) and LLE-GC-MS/MS (LDA26, n=1). na: not analyzed; nd: not detected; *: detected in one sample only, LDA26 uncertainties was set at 30 %.....	306
Tableau S3.19. β -HCH concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-MS (Genoscope, n = 1) and LLE-GC-MS/MS (LDA26, n=1). na: not analyzed; nd: not detected; LDA26 uncertainties was set at 30 %	307
Tableau S3.20. Summary of samples analyzed (+) or not analyzed (-) by Genoscope (2 extraction methods), BRGM and LDA26 (2 analytical methods). *: only CLD, CLDOH and A2 analyzed. Colors boxes represent: brown: 2 nd sampling campaign, blue: analyzed by the three laboratories, green: analyzed by Genoscope and BRGM, purple: analyzed by Genoscope and LDA26 and grey: analyzed by BRGM and LDA26	308
Tableau S3.21. Date of the analysis of environmental waters by Genoscope (n=2), BRGM and LDA26 (n=1). Brown boxes: 2 nd sampling campaign, na : not analyzed.....	309
Tableau S4.1. Localisation et paramètres des six carottes de sédiments de la James River	326
Tableau S4.2. Nomenclature des différentes sections des six carottes de sédiments prélevées dans la James River reçues au Genoscope	326
Tableau S4.3 Caractéristiques des composés étudiés pour le développement de la méthode d'extraction des sédiments de la James River.	327
Tableau S4.4. Aire de CLDOH (m/z 220) recherché dans les différentes sections des sédiments de la carotte n°6 analysées à la suite par une méthode QuEChERS-SPME-GC-SIM-MS. nd : non détecté....	327

Tableau S4.5. Paramètres appliqués pour chaque paramètre testé pendant le développement du protocole d'extraction QuEChERS..... 328

Tableau S4.6. Facteur de vieillissement de A1, CLD et CLDOH suite à une analyse d'un extrait de sédiments ayant subi un extraction QuEChERS-SPE-SPME ou QuEChERS-SPME..... 328

Glossaire

ACN/MeCN	Acétonitrile
AD	Anaerobic Digestion / Digestion anaérobie
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization / Ionisation chimique à pression atmosphérique
APHA	American Public Health Association
APPI	Atmospheric Pressure Photo Ionization / Photoionisation à pression atmosphérique
ASE	Accelerated Solvent Extraction / Extraction accélérée par solvant
ATP	Adénosine Triphosphate
AWWA	American Water Works Association
BRGM	Bureau de Recherche Géologique et Minière
C18	Chaîne alkyle à 18 atomes de carbone
CI	Chemical Ionization / Ionisation Chimique
CLD	Chlordécone
CLDOH	Chlordécol
CLDSH	Chlordecthiol
CO₂	Dioxyde de carbone
CPG	Chromatographie par Perméation de Gel
CSTR	Continuous Stirred-Tank Reactor / Réacteur à cuve agitée en continu
DCM	Dichlorométhane
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DI	Direct Immersion / Immersion directe
DM	Dry Matter / Matière Sèche
d-SPE	Dispersive Solid Phase Extraction / Extraction sur phase solide dispersive
DVB	Divinylbenzène
ECD	Electron Capture Detector / Détecteur à capture d'électron
EI	Electronic Ionization / Impact Electronique
ENSAIA	Ecole Nationale Supérieure en Agronomie et Industries Alimentaires
EPA	Environment Protection Agency
ER	Estrogen Receptor / Récepteur des œstrogènes
ESI	Electrospray Ionization / Ionisation par électronébuliseur
FS	Full Scan
FWI	French West Indies / Antilles françaises
FZV	Fer zéro-valent
GC	Gas Chromatography / Chromatographie en phase gazeuse
GCB	Graphitized Carbon Black / Carbone graphite noir
HCB	Hexachlorobenzène

HCBD	Hexachlorobutadiène
HCH	Hexachlorocyclohexane
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry / Spectromètre de masse à haute résolution
HS	Headspace / Espace de tête
INRA	Institut N ational de la R echerche A gronomique
IPA	Isopropanol
IS	Internal S tandard / Étalon interne
ISCR	<i>In Situ</i> C hemical R eduction / Réduction chimique <i>in situ</i>
LC-MS	Liquid C hromatography / Chromatographie liquide
LDA26	La Drôme Laboratoire
LLE	Liquid-Liquid E xtraction / Extraction liquide-liquide
LMR	Limite M aximale de R ésidu
LOD	Limit o f D etection / Limite de détection
LOQ	Limit o f Q uantification / Limite de quantification
m/z	M asse sur C harge
MAE	M icrowave A ssisted E xtraction / Extraction assistée par micro-ondes
MALDI	M atrix A ssisted L aser D esorption I onization / Ionisation-Désorption laser assistée par matrice
MeOH	M éthanol
MRM	M ultiple R eaction M onitoring
MS	M ass S pectrometry / Spectromètre de masse
OC	O rganochlorine C ompound / Composé organochloré
OCP	O rganochlorine P esticide / Pesticide organochloré
PCB	P olychlorobiphényle
PCP	P entachlorophenol
PDMS	P olydiméthylsiloxane
PCB	P entachlorobenzène
PCE	P erchloroéthylène
PDMS	P olydiméthylsiloxane
PLE	Pressurized Liquid Extraction / Extraction par liquide pressurisé
POP	P olluant O rganique P ersistant / Polluant organique persistant
ppb	P art p er b illion / partie par milliard
PSA	P rimary S econdary A mine / Amine secondaire primaire
PT	P roduit de T ransformation
PTV	P rogrammable T emperature V aporization I njector / Injecteur de vaporisation à température pro-
QuEChERS	Q uick, E asy, C heap, E ffective, R ugged and S afe / Rapide, Facile, Peu cher, Efficace, Robuste et
RMN	R ésonance M agnétique N ucléaire
RSD	R elative S tandard D eviation / Écart-type relatif

ROI	R egion o f I nterest / R égion d'intérêt
SAM	S -adénosyl- L -méthionine
SAU	S urface A gricole U tile
SEC	S teric E xclusion C hromatography / Chromatographie d'exclusion stérique
SFE	S upercritical F luid E xtraction / Extraction par fluide supercritique
SI	S upporting I nformation
SIM	S ingle I on M onitoring
S/N	S ignal/ N oise / Signal/Bruit
SPE	S olid P hase E xtraction / Extraction sur phase solide
SPME	S olid P hase M icro e xtraction / Micro-extraction sur phase solide
TCE	T richloro e thylène
TIC	T otal I on C hromatogram
TLC	T hin L ayer C hromatography / Chromatographie sur couche mince
TOF	T ime o f F light/ Temps de vol
TP	T ransformation P roduct / Produit de transformation
TS/MS	T otal S olid / M atière S èche
UAE	U ltrasound- A ssisted E xtraction / Extraction assistée par ultrasons
UGT	Enzyme U DP- g lucuronosyl t ransférase
VIMS	V irginia I nstitute of M arine S cience
VS/MO	V olatile S olid / M atière O rganique
WEF	W ater E nvironment F ederation

Introduction générale

La chlordécone (CLD, $C_{10}Cl_{10}O_2H_2$) est un pesticide organochloré découvert au milieu du XX^{ème} siècle, produit successivement aux États-Unis, puis au Brésil jusque dans les années 1980-1990. Utilisée pour lutter contre différents nuisibles, la chlordécone a été commercialisée sous plusieurs formulations dans des proportions variables allant jusqu'à 50 % en poids, dont les plus connues sont le Kepone® et la Curlone® (World Health Organization, 1984). Ces produits phytosanitaires ont été utilisés aux Antilles françaises afin de lutter contre le charançon du bananier de 1972 à 1993. Bien que la CLD ne soit plus utilisée depuis une trentaine d'années, on observe encore aujourd'hui une pollution majeure de l'environnement. Historiquement épandue manuellement aux pieds des bananiers, la CLD peut s'infiltrer ou ruisseler à cause des eaux de pluie, contaminant les eaux souterraines, les eaux de rivière et, *in fine*, le littoral. La faune et la flore, ainsi que la population antillaise, se trouvent elles aussi contaminées (Benoit et al., 2020). Des problèmes de santé publique et économiques ont émergé au fur et à mesure de la découverte de l'ampleur de la pollution au cours des deux dernières décennies. L'augmentation du risque de développer un cancer de la prostate chez l'homme ainsi que des retards de développement chez les nourrissons et les enfants en bas âge ont, entre autres, été référencés (Maudouit & Rochoy, 2019). L'économie locale a également été touchée, puisque des mesures d'interdiction totale (pêche en eau douce) ou partielle (certaines zones du littoral interdites d'accès) ont été mises en place, entraînant une paupérisation extrêmement forte des pêcheurs locaux. Des analyses des productions locales ont été mises en place afin d'éliminer des circuits de vente des produits contaminés, notamment certains légumes-racines ou des carcasses d'animaux d'élevage.

Dans ce contexte, des recherches ont été menées afin d'étudier le devenir de la CLD dans l'environnement. Les premières prédictions, qui avaient éliminé toute forme de dégradation naturelle de la molécule, annonçaient une pollution environnementale pouvant s'étendre, par endroits, à plusieurs siècles (Cabidoche et al., 2009). Plusieurs équipes de recherche se sont intéressées à la dégradation de la CLD de manière chimique et/ou microbiologique, ce qui a permis de découvrir une multitude de produits de transformation (PTs), formés au cours de ces expériences. De nombreuses contraintes n'ont cependant pas encore permis d'aboutir à un processus de remédiation satisfaisant à tous les critères exigés pour traiter les sols contaminés, réservoirs de la pollution. Une campagne d'analyse prospective a montré que plusieurs PTs étaient déjà présents dans l'environnement antillais (Chevallier et al., 2019). Ainsi, une dégradation naturelle de la CLD, probablement très lente et/ou sporadique, est déjà en cours aux Antilles françaises. À la lumière de ces résultats, de nouvelles prédictions sur la durée de pollution, plus courte donc, ont été formulées sans qu'un consensus scientifique ne se dégage pour l'instant (Comte et al., 2022; Saaidi et al., 2023).

Plusieurs protocoles d'analyse ont été décrits jusque-là pour permettre le suivi de la pollution avec le dosage de la CLD et de deux PTs, le chlordécol (CLDOH) et la 8-monohydrochlordécone (A2), tous deux présents comme impuretés de synthèse dans les formulations commerciales de CLD épandues aux Antilles (Kepone® et Curlone®). Ces deux PTs sont commercialement disponibles contrairement aux autres PTs qui ont été caractérisés récemment (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Hellal et al., 2021). Or, la disponibilité des étalons est indispensable pour permettre aux laboratoires d'analyses d'intégrer ses nouveaux composés à leurs méthodes de routine. Certains PTs, les hydrochlordécones, possèdent la même structure polycyclique bishomocubane que la CLD, avec un ou plusieurs atomes de chlore en moins. Cela leur confère un comportement proche de la CLD en terme d'extraction, mais leur réponse analytique peut différer malgré tout. D'autres PTs possèdent des structures différentes provenant de l'ouverture de la « cage bishomocubane » de la CLD et/ou des fonctions chimiques beaucoup plus ou beaucoup moins polaires que la CLD. Pour tous ces composés, des méthodes analytiques adaptées doivent être mises en place, en commençant par le choix de la méthode de détection (GC-MS ou LC-MS), puis l'optimisation d'un protocole d'extraction incluant le choix d'un étalon interne adéquat. Les méthodes devront présenter des performances adaptées aux questions scientifiques auxquelles elles doivent contribuer à répondre ; on pense naturellement aux performances des méthodes en terme de sensibilité pour que cela revête un intérêt environnemental et en terme de reproductibilité et de précision pour faciliter le travail d'interprétation des scientifiques dans le suivi de la pollution et la prédiction de modèles.

Les travaux de thèse effectués par Marion Chevallier et Oriane Della-Negra au Genoscope ont permis d'établir des protocoles de synthèse de nombreux PTs. Plusieurs méthodes d'analyse ont déjà été mis en place au Genoscope principalement pour suivre les expériences de dégradations chimiques et microbiologiques réalisées au laboratoire. Mon projet de thèse est la suite logique de ce travail et tire bénéfice de toute l'expérience et le savoir-faire acquis sur la synthèse, la manipulation et la détection des PTs de la CLD. Il a pour objectif de développer des protocoles analytiques pour doser la CLD et ses PTs dans des matrices complexes d'origines environnementales et animales afin d'apporter de nouvelles connaissances scientifiques. Mon projet de thèse s'inscrit plus précisément dans trois projets collaboratifs nationaux et internationaux : l'étude du devenir de la CLD au cours d'un processus de méthanisation en conditions méthanogènes en collaboration avec l'ENSAIA/Université de Lorraine (financement PNR-EST ANSES), la surveillance des eaux de surface et souterraines aux Antilles en collaboration avec l'Observatoire OPALE (CIRAD-BRGM) et l'étude du devenir de la CLD dans les sédiments de la James River en collaboration avec le VIMS (*Virginia Institute of Marine Science*, États-Unis) grâce à un financement du Plan National Chlordécone III.

- Chapitre 1 - État de l'art : Utilisation, dégradation et occurrence de la chlordécone et de ses dérivés dans l'environnement et dans des matrices biologiques

1. La chlordécone et ses dérivés

1.1 Nomenclature historique

La chlordécone (CLD) est une molécule organochlorée, de formule brute $C_{10}Cl_{10}O$, possédant une structure polycyclique carbonée particulière de type bishomocubane (Figure 1.1). Selon la nomenclature du registre CAS, son nom complet est 1,1a,3,3a,4,5,5,5a,5b,6-décachlorooctahydro-2*H*-1,3,4-(méthane-triyl)cyclobuta[cd]pentalèn-2-one (World Health Organization, 1984) et, selon le registre IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée), il devient 1,2,3,4,6,7,8,9,10,10-décachloropentacyclo-[5.3.0.0^{2,6}.0^{3,9}.0^{4,8}]-décan-5-one (PubChem). La masse molaire de la chlordécone est 490.6 g.mol^{-1} . Son numéro d'identification CAS est le 143-50-0.

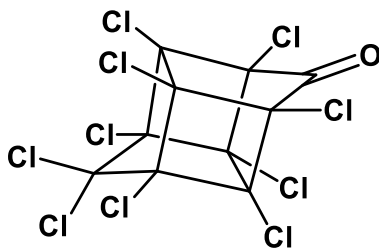


Figure 1.1 Représentation de la molécule de chlordécone sous sa forme cétone.

1.2 Propriétés physico-chimiques

La CLD est communément représentée sous sa forme cétone. Cependant, elle s'hydrate spontanément en présence d'eau, formant un diol géminé (Figure 1.2) (Griffin & Price, 1964; Wilson & Zehr, 1979). À l'état solide, la CLD commerciale est présente sous une forme mono-, di- ou tri-hydrate et n'est ainsi jamais sous sa forme cétone (Epstein, 1978). En effet, la seule présence d'humidité dans l'air permet d'hydrater la CLD (Wilson & Zehr, 1979). Cela a été mis en évidence par RMN ^{13}C avec de la CLD préalablement déshydratée. En solution dans du benzène- d_6 anhydre, la forme gem-diol/hydrate et la forme cétone sont toutes deux observées, alors que dans l'acétonitrile- d_3 (ACN- d_3), seule la forme gem-diol/hydrate est visible (Wilson & Zehr, 1979). En spectroscopie infrarouge, un mélange de formes gem-diol/hydrate et cétone est observé lorsque la CLD, préalablement déshydratée, est dissoute dans du benzène (Harless et al., 1978). Néanmoins, la CLD commerciale analysée directement sous forme solide (pastille de KBr) en spectroscopie infrarouge ne présente aucune bande d'absorption caractéristique de la forme cétone (Bristeau et al., 2012). En chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), la température de l'injecteur ($T \geq 200 \text{ }^\circ\text{C}$) conduit à la déshydratation de la CLD. La forme réellement présente dans la colonne chromatographique et dans le spectromètre de masse est ainsi toujours la forme cétone (George et al., 1986). À l'inverse, la forme gem-diol/hydrate est bien la

seule observée en chromatographie en phase liquide (LC-MS) en mode négatif (ion moléculaire $[C_{10}Cl_{10}O_2H]^-$) avec des mélanges d'éluant eau/solvant organique (Belghit et al., 2015; Bichon et al., 2015; He et al., 2015).

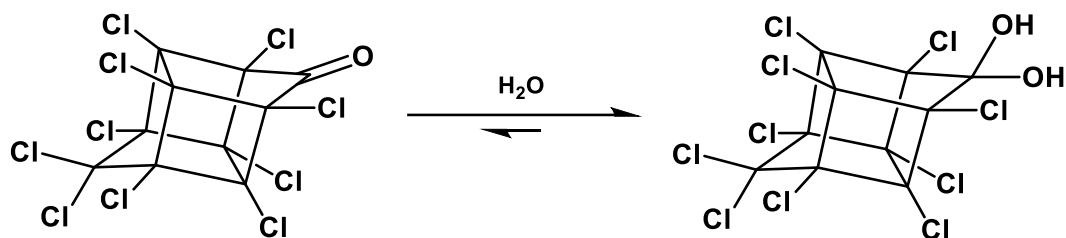


Figure 1.2. Équilibre entre la forme cétone/forme anhydre (à gauche) et la forme gem-diol/forme hydrate (à droite).

La CLD se présente sous la forme d'une poudre incolore et inodore (Epstein, 1978). Ses caractéristiques physico-chimiques lui confèrent une très grande stabilité. En effet, la CLD possède un faible taux de volatilisation ainsi qu'une pression de vapeur basse de 2.5×10^{-7} mm Hg (Cabidoche, Lesueur-Jannoyer, et al., 2006). De plus, le point de sublimation/décomposition de la CLD est estimé à 350 °C, à pression atmosphérique (Epstein, 1978), et son oxydation intervient à des températures supérieures à 450-500 °C (Cabidoche et al., 2006). À ces températures, la CLD se dégrade, formant des sous-produits de combustion tels que des dérivés de la famille des polychlorobenzènes et de l'octachloroindène, son incinération complète n'est, quant à elle, possible qu'à des températures supérieures ou égales à 1000 °C (Dawson et al., 1979). La CLD est caractérisée par un coefficient de partage octanol/eau élevé, estimé entre 4.5 (Howard, 1991) et 5.4 (Hansh et al., 1995) lui conférant un caractère lipophile certain (Cabidoche et al., 2006). Elle possède une faible solubilité dans l'eau à pH acide, de l'ordre de 1 à 2 mg.L⁻¹ à 20 °C (Cabidoche et al., 2006). La solubilité de la CLD augmente en milieu basique et atteint, par exemple, 176 mg.L⁻¹ à un pH de 10.9 (Dawson et al., 1979). La CLD est aussi soluble dans les solvants organiques polaires comme l'acétone (Epstein, 1978) et apolaires tels que le benzène ou l'hexane anhydre (Cabidoche et al., 2006).

1.3 Synthèse de la chlordécone

La première synthèse de la chlordécone a été réalisée au début des années 1950 par Gilbert et Giolito aux États-Unis et la molécule a été brevetée en 1952 (Gilbert & Giolito, 1952). La CLD est obtenue par dimérisation de l'hexachlorocyclopentadiène en présence d'anhydride sulfurique et de pentachlorure d'antimoine, à haute température (Figure 1.3) (Epstein, 1978). Le milieu réactionnel est ensuite hydrolysé par une solution alcaline puis neutralisé par l'ajout d'une solution acide formant, *in fine*, une suspension gélatineuse. La chlordécone est ensuite récupérée par centrifugation ou filtration.

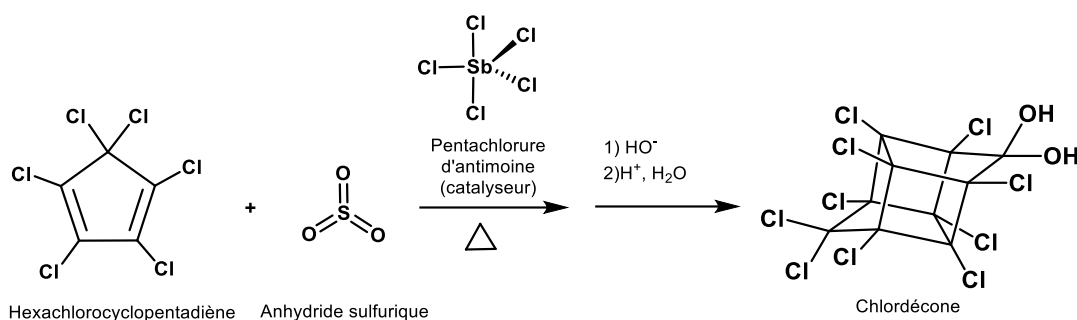


Figure 1.3. Schéma de la synthèse de la chlordécone.

Dès 1958, la société Allied Chemicals est la première à avoir introduit sur le marché la CLD en tant qu'insecticide et fongicide (Epstein, 1978). Sa commercialisation a été réalisée sous les noms de Kepone® ou GC-1189 (produits phytosanitaires avec des pourcentages variables de chlordécone) (Epstein, 1978). Une cinquantaine de formulations différentes ont été commercialisées pour différentes utilisations (Beaugendre, 2005). Au total, 1 600 tonnes environ de CLD ont été produites aux États-Unis jusqu'en 1978. 200 tonnes supplémentaires ont été fabriquées au Brésil dans les années 1980, commercialisées sous le nom de Curlone® (5 % de CLD) (Le Déaut & Procaccia, 2009). Cependant, la majorité de la chlordécone produite a été exportée hors des États-Unis, en Afrique, en Europe et en Amérique latine (Le Déaut & Procaccia, 2009; Sterrett & Boss, 1977).

1.4 Les dérivés de la chlordécone

Le mirex (C₁₀Cl₁₂) a été synthétisé pour la première fois en 1946 à partir de la dimérisation de l'hexachlorocyclopentadiène en présence de chlorure d'aluminium (AlCl₃) dans le tétrachlorométhane (CCl₄) (Prins, 1946). Le mirex possède une cage bishomocubane entièrement chlorée (Figure 1.4). Il a été utilisé principalement comme ignifuge, sous le nom de Dechlorane®, et comme insecticide, notamment pour lutter contre l'invasion des fourmis de feu (*Solenopsis invicta*) (Kaiser, 1978). Sa toxicité, sa bioaccumulation et sa persistance dans l'environnement ont été relatées (Waters et al., 1977). En 1976, Carlson et collègues ont étudié la dégradation du mirex dans l'environnement, montrant une transformation de la molécule en hydromirex et en chlordécone (Carlson et al., 1976).

Le Kelevan (C₁₇H₁₂Cl₁₀O₄) est un composé issu de la condensation de la CLD avec le lévulinate d'éthyle (Figure 1.4) (Gilbert et al., 1966a). On estime que plus de 90 % de la CLD produite aux États-Unis a été exportée en Allemagne pour la fabrication du Kelevan (Epstein, 1978). Cet insecticide a principalement été utilisé afin de lutter contre une invasion de scarabées (*Leptinotarsa decemlineata*, également connu sous le nom de doryphore de la pomme de terre), nuisibles des pommes de terre en Europe et des pieds de bananiers en Amérique centrale (Cannon et al., 1978; Maier-Bode, 1976). Des suivis de la dégradation naturelle du Kelevan ont montré qu'il pouvait, entre autre, se transformer en CLD (Figue & Rehm, 1977; Maier-Bode, 1976).

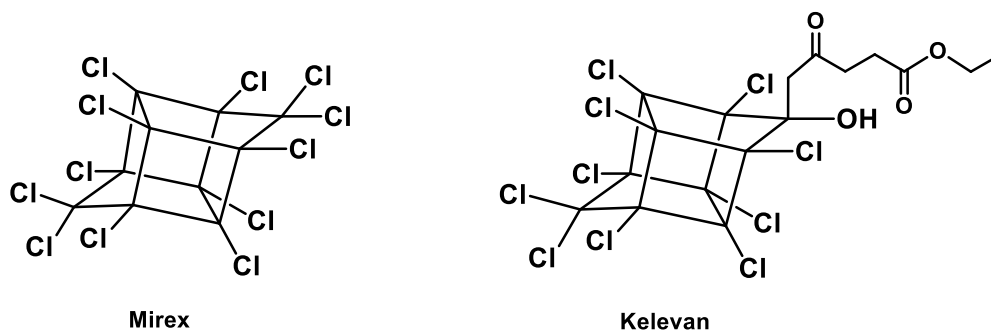


Figure 1.4. Représentation de la molécule de mirex (à gauche) et du Kelevan (à droite)

1.5 État des lieux de la pollution environnementale et des ressources alimentaires

1.5.1 Contamination de la James River

Le « scandale Kepone » a éclaté à la suite de la contamination à la CLD des ouvriers travaillant dans l'usine de production du Kepone à Hopewell (Virginie, États-Unis) et de la pollution aux abords de l'usine, incluant la James River. En effet, le Kepone a été rejeté hors de l'usine, via des émissions atmosphériques et le rejet d'eaux usées contaminées hors des circuits sécuritaires (Dawson et al., 1979). Ainsi, on a évalué qu'environ 10 à 30 tonnes de Kepone avaient été directement déversées dans la James River et se sont retrouvées dans les sédiments du fleuve (Huggett & Bender, 1980).

De nombreux échantillons environnementaux, comprenant des sols et des eaux, ont été collectés autour de l'usine. Les analyses ont révélé que la contamination des sols proches de l'usine pouvait atteindre 1 à 2 % en masse (Huggett & Bender, 1980). Par ailleurs, à plus d'un kilomètre de l'usine, des concentrations allant jusqu'à 6 mg.kg⁻¹ de CLD dans les sols ont été retrouvées. Des échantillons d'eaux de rivière ont aussi été analysés, révélant que la CLD était liée préférentiellement aux particules en suspensions présentes dans l'eau plutôt que dans l'eau en elle-même (Luellen et al., 2006). Une contamination très importante de cette rivière a eu lieu et s'est étendue à plus de 120 km en aval, à l'époque, et jusqu'à 80 cm de profondeur dans les sédiments à la fin de l'année 1976 (Trotman & Nichols, 1978). Les concentrations en CLD les plus importantes sont retrouvées entre 15 km et 50 km en aval de l'usine de Hopewell (Huggett & Bender, 1980). Cependant, les analyses sont assez hétérogènes avec des concentrations en CLD considérablement différentes d'un site de prélèvement à un autre (Figure 1.5) (Trotman & Nichols, 1978). Durant les trois ans qui ont suivi la découverte de la contamination, des échantillons d'eaux de rivière ont été prélevés régulièrement. Environ 25 % (et jusqu'à 50 % ponctuellement) des échantillons contenaient de la CLD à des niveaux détectables (> 1.2 µg.L⁻¹) (Lunsford et al., 1980). Dès 1981, les prélèvements d'eaux ont cessé puisque la contamination diminuait de manière considérable et devenait faible (≈ 0.2 µg.L⁻¹).

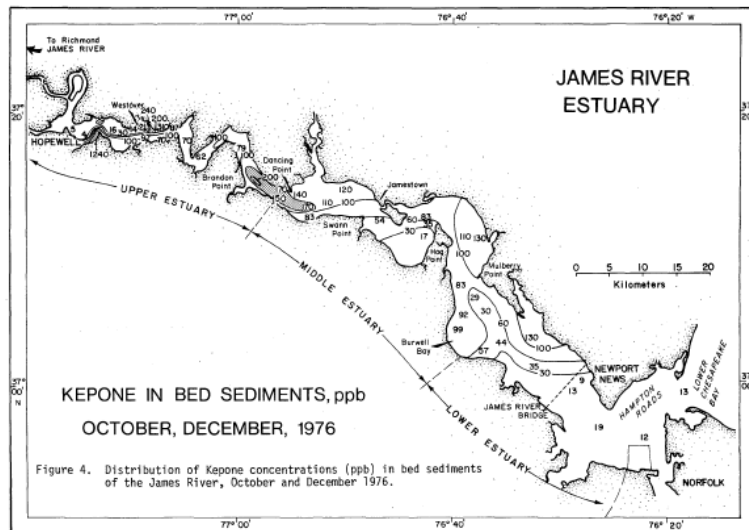


Figure 1.5. Distribution de la concentration en CLD en ppb ($\mu\text{g.kg}^{-1}$) dans les sédiments de la James River en octobre et décembre 1976 (Trotman et Nichols, 1978).

Afin de protéger la population, une partie de la James River contaminée par la CLD avait été provisoirement fermée à la pêche professionnelle et de loisir (Huggett & Bender, 1980). En effet, des analyses sur des espèces aquatiques avaient révélé leur contamination à la CLD. Depuis l'arrêt de l'usine de production de la CLD, la concentration contenue dans deux espèces de référence, le bar et la perche, ne cessent de diminuer au fur et à mesure, atteignant des concentrations inférieures à $90 \mu\text{g.kg}^{-1}$ en 2002 (Figure 1.6) (Luellen et al., 2006).

Au vu de la forte décroissance des concentrations de CLD observée sur la période 1990-2000, la surveillance environnementale s'est ensuite limitée à une campagne d'analyse réalisée en 2016 : des prélèvements de bar et de perche provenant de la James River ont été effectués. Bien que la concentration intrinsèque continue de baisser au fur et à mesure des années, 65 % des poissons avaient encore une concentration en CLD comprise entre 15 et $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Unger & Vadas, 2017). La sédimentation naturelle de la CLD au cours des années s'est alors inscrit comme moyen de décontamination de la James River (Nichols, 1990).

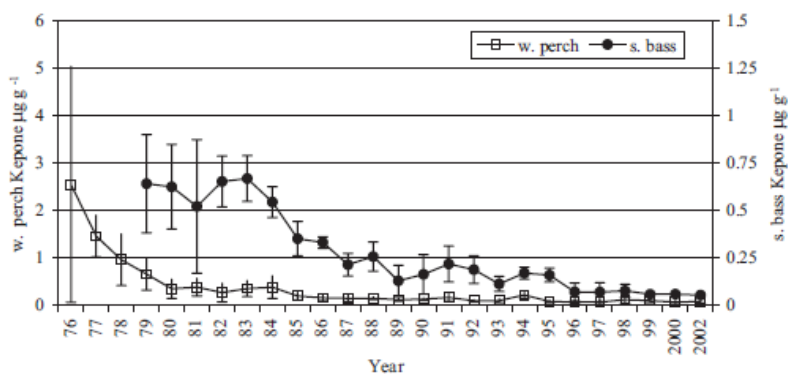


Figure 1.6. Évolution de la concentration de CLD dans les poissons provenant de la James River de 1976 à 2002 (Luellen et al., 2006) ; perch = perche, bass = bar.

1.5.2 Contamination des Antilles françaises

1.5.2.1 Historique de l'utilisation de la chlordécone aux Antilles françaises

La culture de la banane s'est inscrite comme une ressource économique essentielle aux Antilles françaises dès le début du XX^{ème} siècle. Afin de protéger cette ressource des parasites, et particulièrement du charançon du bananier (*Cosmopolites sordidus*), de nombreux pesticides organochlorés ont été employés, notamment les hexachlorocyclohexanes (HCHs) dont le lindane, l'aldrine ou encore la dieldrine dans les années 1950-1960 (Bellec & Godard, 2002). Face à la résistance de plus en plus importante des parasites et à l'interdiction de certains pesticides, la CLD est apparue comme un pesticide de choix, plus efficace à plus faible dose. Le 2 février 1972, le Comité d'Étude des Produits Antiparasitaires à Usage Agricole accorde une autorisation d'utilisation provisoire de la chlordécone dosée à 5 % (à raison de 60 kg.ha⁻¹.an⁻¹) qui s'arrêtera en 1978, année où les autorités américaines interdisent définitivement sa production et son utilisation sur leur sol. Deux cyclones frappent les Antilles, le cyclone Allen en 1979 et le cyclone David en 1980, faisant se développer une communauté parasitaire très importante (Beaugendre, 2005). Pour faire face à ce problème une demande d'homologation du Curlone®, nouvelle formulation à base de CLD dosée à 5 %, est déposée. Celle-ci est autorisée provisoirement dès 1981, uniquement pour lutter contre le charançon du bananier (Beaugendre, 2005). Le Curlone® sera utilisé aux Antilles françaises de 1981 à 1993 (Cabidoche et al., 2006; Le Déaut & Procaccia, 2009). Le retrait de l'autorisation de vente du Curlone® a été acté le 1^{er} février 1990 suite à une nouvelle étude sur sa toxicité (Le Déaut & Procaccia, 2009). Son utilisation a cependant pu être prolongée jusqu'au 30 septembre 1993 par le biais de multiples dérogations afin de consommer les stocks antillais (Beaugendre, 2005). On estime qu'environ 300 tonnes de CLD ont été épandues aux Antilles entre 1972-1978 et 1981-1993 (Le Déaut & Procaccia, 2009).

1.5.2.2 Affinités de la chlordécone pour la matière organique

Les Antilles françaises, constituées entre autres de la Guadeloupe et de la Martinique, sont des îles d'origine volcanique dont les volcans les plus connus sont le volcan de la Soufrière en Guadeloupe et celui de la montagne Pelée en Martinique (Colmet-Daage & Lagache, 1965). Les Antilles françaises sont constituées majoritairement de deux types de sols. : i) les sols non allophanes, représentés par les nitisols et les ferralsols, composés d'argile halloysite et ii) les sols allophanes plus jeunes, comprenant les andosols, contenant des argiles amorphes agencées en microstructures fractales et tortueuses (Colmet-Daage & Lagache, 1965). La surface spécifique et le volume des pores sont plus importants dans les sols allophanes engendrant une meilleure rétention de la CLD (Woignier et al., 2012). En effet, la disposition spatiale des agrégats dite tortueuse dans les sols allophanes rend la CLD moins accessible aux phénomènes de diffusion en complémentarité des interactions chimiques (Woignier et al., 2015).

Ainsi, les andosols sont plus contaminés que les autres types de sols et rendent la CLD moins disponible (Woignier et al., 2012). Les données physico-chimiques de la CLD montrent que le coefficient de partage matière organique/eau (Koc) est de 2 à 3 $\text{m}^3.\text{kg}^{-1}$ pour les nitisols, 7.5 à 12 $\text{m}^3.\text{kg}^{-1}$ pour les ferralsols et 12 à 25 $\text{m}^3.\text{kg}^{-1}$ pour les andosols (Cabidoche et al., 2009). La CLD est, en conséquence, plus accessible dans les nitisols que dans les andosols (Koc 6 à 8 fois plus faible). Cette inaccessibilité pourrait rendre inefficaces des processus de remédiation de la CLD sur le terrain, bien qu'opérationnels en laboratoire (Mouvet et al., 2020). Ainsi, les premières estimations, ne prenant pas en compte d'éventuels processus de dégradation, montrent que la pollution à la CLD devrait durer plusieurs dizaines d'années pour les nitisols, quelques siècles pour les ferralsols et jusqu'à 500 ans pour les andosols (Cabidoche et al., 2009). Des analyses récentes sur les mêmes parcelles ont été réalisées et ont montré une diminution plus importante qu'attendue de la concentration en CLD. Le modèle prévisionnel a alors été adapté en introduisant un phénomène de dissipation avec, *in fine*, un temps de demi-vie de la CLD dans les sols estimé à 5 ans et une fin de contamination dans les années 2070 (Comte et al., 2022). Cependant, plusieurs points, non pris en compte dans la construction du modèle, ont été soulevés par Saaidi et collègues (2023) (possible biais dans les deux méthodes analytiques utilisées au cours des années, difficulté dans la reproductibilité de l'échantillonnage terrain due à une forte inhomogénéité spatiale de la contamination, érosion des sols possiblement minorée) remettant en cause ces dernières conclusions.

1.5.2.3 *Transfert de la chlordécone dans les différents compartiments environnementaux*

Dès 1975, l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) a ordonné une étude sur la pollution environnementale de la CLD dans les terres avoisinant les plantations de bananier en Guadeloupe. Des concentrations en résidus de CLD de 9.5 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ dans le sol et de 0.135 $\text{mg}.\text{kg}^{-1}$ dans les sédiments ont été retrouvées (Snegaroff, 1977). La pollution à la CLD provient de l'épandage massif de ce pesticide directement aux pieds des bananiers. Sans possibilité de biodégradation rapide ni de volatilisation, la pollution s'est donc inscrite durablement due notamment à chaque apport direct de CLD, à sa forte rétention à la matière organique ainsi qu'au faible lessivage de la CLD par les eaux de pluie (Cabidoche et al., 2006). Il est à noter que de fortes disparités de teneur en CLD pour une même parcelle pour des distances pouvant être inférieures à dix mètres, conduisant à la mise au point d'un arbre décisionnel pour définir le protocole d'échantillonnage le plus efficace pour évaluer correctement la contamination d'une parcelle (Clostre, Lesueur-Jannoyer, et al., 2014). Aujourd'hui, des études estiment qu'environ 16 % de la surface agricole utile (SAU) de Guadeloupe (Rochette et al., 2017) et 40 % en Martinique (DAAF, 2018) sont contaminées par la CLD.

Le réservoir de CLD se situe dans les sols. Cependant, la CLD est transportée par l'eau via deux phénomènes principalement : le ruissellement et l'infiltration. Le ruissellement entraîne le déplacement de fines particules de terre contaminées à la CLD d'un endroit à un autre notamment dans les bassins versants. Cependant, c'est l'infiltration des eaux de pluie qui participe à la majeure partie de la distribution de la CLD en contaminant notamment les nappes souterraines qui régulent le niveau des rivières et donc qui contaminent elles-mêmes les rivières (Figure 1.7) (Crabit et al., 2016).

En 1977, Snegaroff mettait en lumière la contamination des eaux de rivière de Guadeloupe avec des taux de l'ordre de $0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Snegaroff, 1977). Des analyses systématiques des eaux de rivière ont été initiées en 1999 et les suivis restent aujourd'hui réguliers dans le cadre de l'Observatoire OPALE (Observatoire de la Pollution Agricole aux Antilles) avec plusieurs dizaines de sites vérifiés mensuellement en Martinique et en Guadeloupe. Bien qu'interdite depuis plusieurs décennies, la CLD est détectée presque systématiquement dans l'eau de rivière du bassin versant du Galion en Martinique, avec des échantillons dépassant la limite de potabilité fixée pour la CLD à $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$ dès 1998 (Wintz & Pak, 2021). En 2016, 36 % des eaux de rivière analysées en Guadeloupe étaient contaminées à la CLD avec des taux pouvant aller jusqu'à plus de $40 \mu\text{g.L}^{-1}$. Il est important de noter que 39 % des bassins versants d'où proviennent ces eaux, ont comme point final la mer (Rochette et al., 2020). Une étude récente a estimé que plus de 27 kg de CLD avaient été rejetés en seulement 15 mois dans le milieu marin rien que pour le bassin versant du Galion (Martinique) (Dromard, Allenou, et al., 2022).

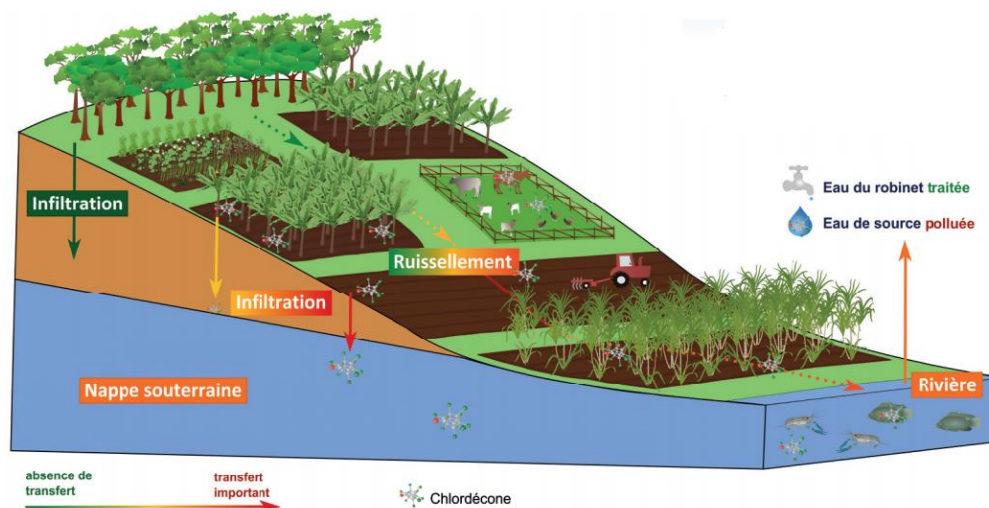


Figure 1.7. Schématisation de la distribution de la CLD dans l'environnement depuis les bassins versants vers les nappes souterraines et l'eau de rivière (CIRAD, 2018)

Depuis 2011, des algues brunes appelées sargasses (*Sargassum*) s'échouent massivement sur les plages de la mer des Caraïbes dont les Antilles françaises font partie. Outre la toxicité liée à l'inhalation du sulfure d'hydrogène émanant de ces algues (Resiere et al., 2021), il a été prouvé que les sargasses bioaccumulent la CLD (Devault et al., 2022). Il convient donc de trouver une solution afin de traiter les

sargasses. Ces algues ont été utilisées dans la fabrication de biochars et de charbons actifs afin de séquestrer la CLD contenue dans les sols (Ranguin et al., 2021), montrant ainsi des résultats prometteurs pour limiter la biodisponibilité de la CLD pour la chaîne alimentaire. La CLD n'est pour autant pas retirée des sols à proprement parler et des tests complémentaires afin de réduire le coût de la pyrolyse de ces algues devront être réalisés, tout comme l'étude du devenir de l'arsenic, élément très toxique pour l'Homme, que les sargasses bioaccumulent tout au long de leur cycle de vie marine (Devault et al., 2022).

1.5.3 Bioaccumulation et bioamplification dans la chaîne trophique

La première grande estimation de l'exposition de la population martiniquaise à la chlordécone via l'alimentation a été réalisée en 2005 dans le but de fixer les limites maximales de résidus (LMR) afin de limiter l'exposition chronique de la population (Afssa, 2005). En effet, on estime que plus de 90 % de la population antillaise est contaminée à la CLD, contamination qui reste aujourd'hui encore élevée (Anses, 2017; Dereumeaux et al., 2020). L'une des sources d'exposition alimentaire provient des légumes-racines comme la patate douce, le dachine et l'igname. Ces aliments très contaminés à la CLD (en moyenne $320 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour les patates douces) (Afssa, 2005) font partie des aliments de base dans l'alimentation des antillais. Clostre, Letourmy et collègues (2014) ont étudié la contamination de l'igname, du dachine et de la patate douce qui ont poussé directement dans des sols contaminés à la CLD. 86 % des échantillons dépassaient la limite maximale de résidus fixée à $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de matière fraîche (MF). Ces teneurs pouvaient atteindre $336 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (MF) dans le dachine, $439 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (MF) dans l'igname et $209 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (MF) dans la patate douce (Clostre, Letourmy, et al., 2014). Une bioaccumulation de la CLD dans les légumes racinaires se produit comme cela a déjà été décrit pour d'autres organochlorés hydrophobes (Clostre et al., 2015). Bien que la contamination des légumes-racines est proportionnelle avec la contamination du sol, les nitisols, de par leur Kow inférieur à celui des andosols, induisent une augmentation de la contamination (Cabidoche & Lesueur-jannoyer, 2012).

Les animaux terrestres sont eux aussi contaminés à la CLD notamment par l'ingestion involontaire de sol contaminé (Collas et al., 2023). La contamination des animaux est très rapide. Des canards élevés en plein air sur un sol contaminé à la CLD à des concentrations comprises entre 360 et $510 \mu\text{g.kg}^{-1}$ de matière sèche (MS), se retrouvent contaminés à la CLD à hauteur de $258 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (MF) au bout de seulement 4 semaines et $1\ 215 \mu\text{g.kg}^{-1}$ au bout de 26 semaines dans leur foie. Les œufs des canards sont eux aussi contaminés (Jondreville et al., 2014).

Une étude estime que 20 % de la teneur en CLD contenue dans les sols serait désorbée dans les estuaires et 10 % atteindrait l'environnement marin (Dromard, Devault, et al., 2022). Le transfert de la pollution aux environnements aquatiques conduit également à la contamination des poissons et des autres espèces présentes. Les concentrations les plus importantes de CLD ont été retrouvées chez les

tilapias provenant de la rivière Lézarde en Martinique (concentrations comprises entre 196 et 386 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (Coat et al., 2006). Les espèces marines sont quant à elles beaucoup moins polluées avec des concentrations allant jusqu'à 31 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour le homard. Cette étude a permis de se rendre compte que les espèces aquatiques carnivores et détritivores sont celles qui sont les plus contaminées à la CLD (Coat et al., 2006). En 2008 et 2009, une étude sur la pollution des espèces marines a été réalisée en Guadeloupe et en Martinique (Bertrand et al., 2009). 69 espèces ont été étudiées et environ 18 % des échantillons se sont révélés contaminés à la CLD avec des concentrations excédant la LMR fixée à 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Les espèces les plus contaminées provenaient des baies protégées où les courants sont faibles et où les sédiments abritent de nombreuses espèces (crabes et homards par exemple) (Bertrand et al., 2009; Dromard et al., 2016). En 2019, Dromard et collègues ont mis en évidence un phénomène de bioamplification de la contamination à la CLD entre les consommateurs primaires (herbivores, mangeurs de biofilm et mangeurs de particules en suspension), contaminés par contact direct avec les eaux contaminées, et les consommateurs secondaires (piscivore, planctivores et mangeurs d'invertébrés) (Figure 1.8) (Dromard, Devault, et al., 2022).

En Guadeloupe, plusieurs mollusques, poissons et crustacés ont été échantillonnés dans différentes communes, dont Goyave (mangrove, récifs coralliens et herbiers), Trois-Rivières, Bananier et Capesterre (Bouchon & Lemoine, 2003). Des concentrations de l'ordre de 4 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ chez le poisson dit « blanche » (*Eucinostomus gula*), 11 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ chez l'oursin blanc, 2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ chez le barracuda et 17 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ chez le poisson chirurgien ont été retrouvées. Les zones d'interdiction de pêche se sont étendues au cours des années 2010, avec une zone totalement interdite de 37 km^2 et une zone d'interdiction de pêche partielle de 159 km^2 autour de la Guadeloupe (Arrêté préfectoral N°2013-057 du 26 juin 2013) et des zones maritimes liées aux bassins versants contaminés par la CLD en Martinique (Arrêté préfectoral n° 2012335-0003 du 30 novembre 2012).

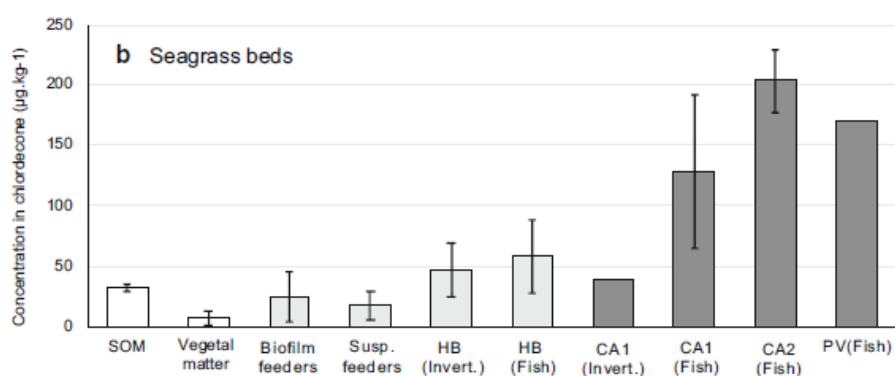


Figure 1.8. Concentration en CLD dans différentes sources de matière et différents organismes marins vivant dans les algues marines (Seagrass beds), SOM : matière organique en suspension, HB : herbivores, CA1 : mangeurs d'invertébrés, CA2 : mangeurs de poissons et d'invertébrés, PV : piscivores (Dromard, Devault, et al., 2022)

Récemment, la CLD a été détectée dans la graisse de plusieurs types de cétacés (cachalots, dauphins et fausses orques) de Guadeloupe à des concentrations inférieures à $329 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Méndez-Fernandez et al., 2018). Les échantillonnages de ces espèces ont eu lieu dans les eaux océaniques, à des profondeurs supérieures à 1000 m. De plus, leurs réseaux trophiques étaient distants des sources de la pollution CLD. Ces concentrations, inférieures aux concentrations retrouvées dans les espèces d'eaux douces ou côtières, montrent que la pollution à la CLD s'est étendue jusqu'aux espèces pélagiques.

1.6 Toxicité de la chlordécone chez l'Homme

1.6.1 Toxicité aiguë

Dès 1958, début de la commercialisation du Kepone, des premiers éléments de toxicité ont été exprimés par Allied Chemicals (Epstein, 1978). La société Nease Chemical a, la même année, évoqué des mises en garde quant à l'utilisation du Kepone : "Peut irriter les yeux, le nez, la gorge et la peau", "Peut être nocif si inhalé ou avalé", "Évitez de respirer les brouillards ou les vapeurs de pulvérisation" ou encore "Évitez tout contact avec la peau, les yeux ou les vêtements" (Epstein, 1978).

La première étude sur les effets de la CLD sur l'Homme remonte à 1978 (Cannon et al., 1978). En suivant l'état de santé des ouvriers contaminés de l'usine de fabrication de la CLD à Hopewell (États-Unis), des effets sur la santé à la suite d'une contamination aiguë à la CLD chez l'Homme ont été découverts. Cette contamination a été occasionnée par les conditions de travail médiocres de l'usine : ventilations défectueuses, fuites des réservoirs ainsi qu'une absence d'utilisation de protections individuelles (Cannon et al., 1978). Plusieurs signes cliniques caractéristiques, désignés par le terme « syndrome du Kepone » se sont manifestés chez les ouvriers : nervosité, tremblements, opsoclonus (mouvement des yeux saccadé, involontaire et anarchique), ataxie cérébelleuse (perte de la coordination des muscles), douleurs thoraciques, perte de poids et oligospermie (Cannon et al., 1978). Avec des concentrations dans le sang pouvant dépasser $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (10 ppm), aucun décès n'a pour autant été recensé. L'apparition des symptômes intervenait environ six semaines après le début de l'exposition. Des études ont permis d'estimer la durée de demi-vie de la CLD à 165 jours dans le sang et 125 jours dans la bile (Cohn et al., 1978).

À la même période, une deuxième équipe de recherche a travaillé sur une seconde cohorte d'ouvriers contaminés par la CLD qui travaillaient dans une autre usine de production de Kepone située à Baltimore, (Maryland, États-Unis) (Adir et al., 1978). Le suivi des ouvriers a permis d'estimer une durée de demi-vie de la CLD dans le sang entre 63 et 148 jours. Les effets neurologiques engendrés par une contamination à la CLD s'estompent lorsque la concentration en CLD diminue (Cohn et al., 1978). Exploitant toutes ces données historiques, un modèle pharmacocinétique physiologique (PBPK) pour l'Homme a été publié récemment (Emond & Multigner, 2022).

1.6.2 Toxicité à la suite d'une exposition chronique aux Antilles

Aux Antilles françaises, l'exposition de la population à la chlordécone se poursuit depuis de nombreuses années. Plusieurs études épidémiologiques ont été menées sur la population antillaise afin de déterminer la toxicité chronique à la suite d'une exposition à faible dose à la CLD. Multigner et collègues ont réalisé une étude épidémiologique sur 623 patients atteints d'un cancer de la prostate et 671 patients contrôles. Il a été démontré qu'une concentration plasmatique importante ($> 0.96 \mu\text{g.L}^{-1}$) en CLD corrélait avec l'augmentation du risque de développer un cancer de la prostate (Multigner et al., 2010), bien que ce risque soit déjà augmenté par les origines des antillais ainsi que leur mode de vie (Multigner et al., 2016). Récemment, une augmentation du risque de récurrence du cancer de la prostate a pu être corrélée avec la présence de CLD dans le sang (Brureau et al., 2020). La CLD ne possède *a priori* pas d'effets mutagéniques ni génotoxiques (Legeay et al., 2018). Elle est cependant considérée comme un perturbateur endocrinien en agissant comme agoniste sur les récepteurs à œstrogène α (ER α) et antagoniste des ER β (Clere et al., 2012; Delfosse et al., 2014). En se fixant sur les ER α , la CLD activerait ce récepteur favorisant l'angiogenèse et ainsi le développement de nouveaux vaisseaux à partir de ceux existants. Via l'augmentation de la vascularisation cellulaire, la croissance de tumeurs malignes ou de métastases est possible pouvant expliquer le développement et la récurrence de cancer de la prostate (Alabed Alibrahim et al., 2020; Clere et al., 2012). De récentes études sur des souris ont montré que des effets transgénérationnels sur les tissus somatiques de la prostate, notamment via le sperme, pouvaient être observés (Legoff et al., 2021).

Les effets de l'exposition prénatale, chez le nourrisson et chez l'enfant, ont également été étudiés. Depuis une dizaine d'années, des chercheurs suivent une cohorte d'enfants depuis leur naissance, nommée cohorte TIMOUN composée de 153 enfants (86 filles et 67 garçons) dont ils ont estimé l'exposition *in utero* à la CLD via un dosage du sang du cordon ombilical. Une première corrélation est apparue entre l'exposition prénatale et la prématurité (Kadhel et al., 2014). D'autres effets possiblement imputables à la CLD ont également été mis en évidence : survenue de problèmes moteurs, retard du développement de la mémoire (réticence à la nouveauté; mémoire visuelle particulièrement impactée avec un temps de traitement allongé des informations visuelles). Durant les premiers mois de l'enfant, l'exposition à la CLD entraîne un indice de masse corporelle (IMC) plus faible, notamment chez les filles (Costet et al., 2015). Peu de cas de déficience de l'acuité visuelle en lien avec l'exposition à la CLD ont été rapportés. Boucher et collègues (2013) confirment l'existence d'une corrélation entre une contamination à la CLD et un retard du développement moteur observé par Dallaire et collègues (2012), mais seulement chez les garçons, laissant penser que les effets négatifs de la CLD suite à une exposition prénatale sont durables et proviennent de dérèglements hormonaux (Gely-Pernot et al., 2018). Même si les concentrations retrou-

vées dans le sang du cordon ombilical étaient inférieures aux valeurs sanguines mesurées chez des ouvriers de l'usine de Hopewell, les effets neurologiques semblent perdurer chez les enfants. La période prénatale semble être une période critique au développement d'effets neurologiques graves. Âgés de 7 à 8 ans, les garçons de la cohorte TIMOUN les plus contaminés en CLD ont montré une sensibilité au contraste moins importante que les filles exposées à un niveau similaire (Saint-Amour et al., 2020). De plus, des tremblements subtils de la main ont été observés, corrélés avec l'exposition prénatale ainsi qu'une détérioration du traitement visuel et des mouvements fins (Desrochers-Couture et al., 2022). La présence d'hormones thyroïdiennes à un niveau élevé a été détecté dans la petite enfance (Costet et al., 2015). Ces niveaux n'ont pas diminué avec l'âge, et sont associés à des niveaux élevés de stéroïdes sexuels, niveaux qui devront être surveillés dans les prochaines études (Ayhan et al., 2021).

De plus, les différentes expositions à la CLD de l'enfant *in utero* et pendant l'enfance entraînent des problèmes différents avec des problèmes de comportements intériorisés de capacités cognitives (plus faibles raisonnement perceptif, mémoire de travail et compréhension verbale) (Oulhote et al., 2023).

1.7 Transformation de la chlordécone et ses dérivés

1.7.1 Dégradations chimiques

1.7.1.1 Dégradation photochimique

Des études de dégradation de la CLD via des procédés photochimiques ont été réalisées. Dans les années 1970, Alley et collègues ont traité la CLD à l'aide d'un rayonnement ultra-violet (Alley et al., 1974) conduisant à la formation de la 8-monohydroCLD et de la 2,8-dihydroCLD qui ont pu être isolées puis identifiées par RMN (Wilson & Zehr, 1979). Récemment, Cruz-Gonzales et collègues (2018) ont réalisé une étude afin de dégrader la CLD par ozonation, photolyse et par réaction de photo-oxydation de type Fenton. La photolyse s'est révélée bien plus performante que les procédés oxydatifs avec une dégradation quantitative obtenue en 5 heures. La détection d'hydroCLDs est mentionnée sans détail sur leur nature exacte et aucune recherche complémentaire d'autres produits de transformation n'a été effectuée.

1.7.1.2 Dégradation à l'aide du fer

Le fer zéro-valent (FZV) est un donneur d'électrons efficace dans la remédiation des composés organochlorés. Pour la CLD, Belghit et collègues (2015) ont observé une diminution du taux de CLD de 62 % au bout de deux jours de contact entre la CLD et le FZV en laboratoire, la CLD n'étant plus détectée après 14 jours. Des produits de dégradation de la famille des hydrochlordécones (monohydro-, dihydro-, trihydro-, tétrahydro- et pentahydroCLD) ont été détectés.

La réduction chimique *in situ* (ISCR) est un procédé breveté en 2000 (Seech et al., 2000) qui combine une réduction de l'oxygène via la dégradation des sources de carbone ajoutées et une réduction chimique directe grâce à la présence de métaux, comme le fer ou le zinc qui vont réduire les polluants (Dolfing et al., 2007). Ainsi, les composés organochlorés vont être généralement déchlorés sans changement du squelette carboné via des réactions d'hydrogénolyse, de β -élimination et de déhalogénéation. Mouvet et collègues (2017) ont appliqué, dans le cadre d'expériences en mésocosme, un protocole ISCR en vue de dégrader la CLD contenue dans les différents sols antillais (andosols, nitisols et ferralsols). Pour cela, plusieurs amendements successifs de Daramend® (mélange de matière organique et de fer zéro-valent) et d'un mélange à 1 % de zinc et 0.03 % de fer zéro-valent ont été mis en contact avec les sols. Après 4 semaines de traitement, le taux de CLD a diminué de 74 % dans les nitisols, 71 % dans les ferralsols et 22 % dans les andosols. À l'issue de ces expériences, 11 hydroCLDs (mono-, di-, tri-, tétra- et pentahydroCLD) ont été observées dans les andosols et 7 dans les nitisols et ferralsols (Mouvet et al., 2017). Des essais sur des parcelles agricoles avec différents types d'amendements à base de FZV ont permis d'éliminer jusqu'à sept atomes de chlore sur la CLD (Mouvet et al., 2020). Récemment, l'analyse de l'eau interstitielle suite à un traitement ISCR d'un nitisol en lysimètre a permis de détecter des mono-, tri-, tétra-, penta- et heptahydroCLD en concomitance avec la diminution de la concentration en CLD (Ollivier, Engevin, et al., 2020). La déchloration de la CLD engendre des composés plus mobiles, augmentant alors le risque de contamination des sols en profondeur ainsi que des nappes phréatiques (Ollivier, Touzelet, et al., 2020). Bien que ces protocoles soient efficaces, traiter l'ensemble de la zone contaminée par la CLD n'est pas envisageable compte-tenu du prix de ce procédé (12 à 19 €/m²) (Mouvet et al., 2020).

En 1976, Holmstead a étudié la dégradation chimique du mirex. Pour cela, l'hématine contenant du fer complexé au sein d'un noyau porphyrine a été réduite par du Na₂S₂O₄. Mise en contact avec le mirex, une dégradation de celui-ci a conduit à la formation de différents produits tels des mono-, di-, tri- et tétrahydromirex (Holmstead, 1976). L'hématine peut aussi réduire la CLD en monohydroCLDs, en présence de FZV ou citrate de titane, mais aussi en polychloroindènes et en acides polychloroindène-carboxyliques en présence de sulfure de sodium (Chevallier et al., 2019).

1.7.1.3 Dégradation à l'aide de la vitamine B₁₂

La vitamine B₁₂ a été isolée pour la première fois en 1948 (Figure 1.9) (Rickes et al., 1948). Elle intervient comme cofacteur pour trois classes d'enzymes : i) les isomérases AdoCbl-dépendantes, ii) les méthyltransférases MeCbl-dépendantes et iii) les déhalogénases réductrices B₁₂-dépendante (Takahashi-Iñiguez et al., 2012). Elle est composée d'un noyau corrine complexé à un atome de cobalt pouvant être fortement nucléophile selon son état d'oxydation variant de +III à +I. Dans ce contexte, la

vitamine B₁₂ et ses dérivés ont également été étudiés dans le cadre de stratégies de (bio)remédiation de pesticides persistant dans l'environnement.

En 1978, Schrauzer et collègues se sont intéressés à la dégradation de la CLD et du mirex par la vitamine B₁₂. Pour le mirex, en contact avec un réducteur en excès (NaBH₄), plusieurs hydromirex ont été observés avec perte d'un à six atomes de chlore. Un autre composé chloré résultant de l'ouverture de la cage bishomocubane a également été observé après 42 heures. La mise en contact de la vitamine B₁₂ avec la CLD, en présence de thioglycérol agissant comme un réducteur, a permis d'obtenir différents produits de transformation de la CLD. Outre des hydroCLDs, des composés à neuf atomes de carbone ont également été détectés. Les auteurs ont postulé une structure de type indène C₉Cl_{8-n}H_n (n = 3-5) (Schrauzer & Katz, 1978).

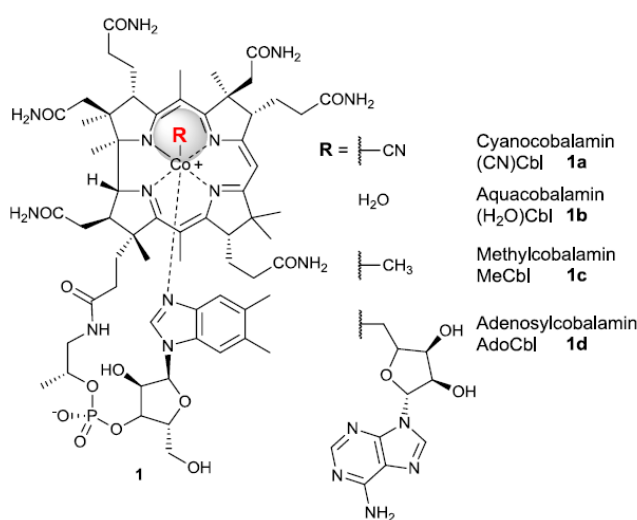


Figure 1.9. Représentation de la vitamine B₁₂ sous ses différentes formes (Giedyk et al., 2015)

Jablonski et collègues (1996) ont réalisé des dégradations de la CLD en présence de vitamine B₁₂ et de citrate de titane formant des produits de transformation polaires et apolaires. Leur structure n'a cependant pas pu être élucidée. Ranguin et collègues (2017) ont étudié la dégradation de la CLD avec de la vitamine B₁₂ réduite par du zinc. Après 20 minutes, 90 % de la CLD s'est dégradée en un composé de formule brute C₉Cl₅H₃. Récemment, Chevallier et collègues (2019) ont montré que la CLD se dégrade en hydroCLDs, en polychloroindènes et en acides polychloroindèncarboxyliques en quelques heures en présence de vitamine B₁₂ et de réducteurs tels que le citrate de titane, le FZV ou le Zinc zéro valent (Chevallier et al., 2019). Ces composés seront présentés dans le paragraphe §1.7.3.

1.7.2 Métabolisation chez les mammifères et l'Homme

En 1980, Fariss et collègues ont mis en évidence une voie de métabolisation de la CLD chez l'Homme. Pour cela, la bile des ouvriers de l'usine d'Hopewell (États-Unis) contaminés a été récupérée

pour étudier le devenir de la CLD chez l'Homme. Ainsi, il a été démontré que la CLD est dans un premier temps réduite en chlordécol (CLDOH, $C_{10}Cl_{10}OH_2$) (Figure 1.10) par l'action de l'enzyme aldo-céto réductase, capable de réduire également des cétones aromatiques ou aliphatiques en alcools (Fariss et al., 1980). Ensuite, l'enzyme UDP-glucuronosyl transférase (UGT) présente dans le foie, permettrait de conjuguer la CLD et le CLDOH en formes glucuronées afin de rendre ces molécules plus polaires et faciliter leur élimination. Le CLDOH est présent sous sa forme glucuronée dans la bile tandis que la CLD est excrétée en majeure partie sous sa forme libre. Les formes conjuguées peuvent cependant s'hydrolyser dans des conditions acides dures ou en présence de β -glucuronidases et/ou β -sulfatases, pour former de la CLD ou du CLDOH libres.

En 1981, Houston et collègues ont étudié la voie de métabolisation de la chlordécone chez plusieurs animaux tels que le rat, le cochon d'Inde, la souris, le hamster ou encore la gerbille de Mongolie. Cette dernière est la seule espèce étudiée où une concentration significative de CLDOH a été retrouvée. Cette étude confirme la présence d'une métabolisation possible de la CLD en CLDOH dans le foie. Le CLDOH est ensuite conjugué afin d'être très rapidement excrété dans la bile, puisque non détecté dans le sérum et le foie (Houston et al., 1981). En 1983, Soine et collègues ont démontré que la CLD était métabolisée de la même manière chez le cochon (Soine et al., 1983). Fourcot et collègues (2020) ont réalisé une étude de toxicocinétique de la CLD chez le cochon. Après la contamination, la CLD diffuse dans un premier temps dans le corps durant les premières 24 heures puis une étape d'élimination intervient. Le temps de résidence dans le cochon est de 77 jours. En effet, la CLD se lie aux compartiments périphériques profonds chez le cochon, riches en lipides et protéines.

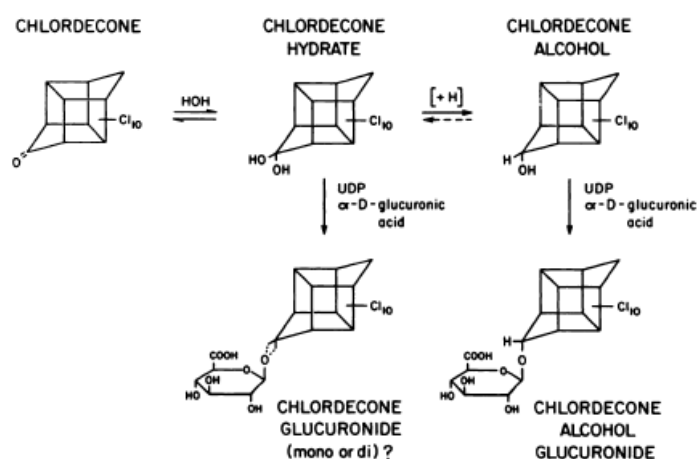


Figure 1.10. Voie de métabolisation de la CLD chez l'Homme proposée par Fariss et al., 1980

Le devenir de la CLD chez l'animal ruminant, tel la brebis, a récemment été étudié (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018). L'excrétion de la CLD et de ses possibles formes conjuguées par les urines et les fèces a, entre autres, été investiguée. Les formes conjuguées ont ainsi été indirectement détectées, via

une étape de déconjugaison enzymatique permettant de les convertir en CLD et CLDOH libres. Selon les auteurs, les formes conjuguées étaient principalement excrétées dans les urines alors que le CLDOH l'était seulement dans les fèces. La CLD, quant à elle, a été détectée dans les deux matrices, tout en étant majoritaire dans les fèces. Aucune étude de toxicité n'a été réalisée sur ces formes conjuguées qui, via les urines, peuvent se retrouver dans l'environnement et potentiellement contaminer d'autres organismes (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018). Chez la brebis, la CLD se lie préférentiellement au foie puis dans les tissus gras et enfin dans les muscles. Le temps de demi-vie de la CLD dans le sang est estimé entre 21 et 24 jours chez la brebis (Fourcot et al., 2021; Saint-Hilaire et al., 2020) et 20 jours chez la chèvre (Fournier et al., 2017). Ainsi, au bout de 127 jours, en supposant une cinétique d'ordre 1, on estime que 97 % de la CLD a été éliminée (Fourcot et al., 2021). Très récemment, Saint-Hilaire et collègues (2021) ont proposé un modèle toxicocinétique de l'élimination de la CLD chez la brebis. La CLD ainsi que les formes conjuguées du CLDOH (CLDOH-C), provenant de la métabolisation de la CLD dans la brebis, ont pu être détectées dans le sang. Le CLDOH provenant de la métabolisation de la CLD a un temps de demi-vie très court de 1.6 jours dans le sang et est rapidement transformé en CLDOH-conjugué (Saint-Hilaire et al., 2021).

1.7.3 Transformations microbiologiques

Dès 1980, des travaux de recherches ont été menés pour dégrader microbiologiquement la CLD (Orndorff & Colwell, 1980). La souche KO₃ de *Pseudomonas aeruginosa* a été isolée des boues de la station de traitement des déchets de Hopewell (États-Unis). En aérobiose, la CLD a été faiblement dégradée avec la formation de la 8-monohydroCLD et de la 2,8-dihydroCLD. Une culture mixte provenant d'eau de lagune a permis de transformer partiellement la CLD en 8-monohydroCLD, 2,8-dihydroCLD et peut-être aussi en CLDOH. George et Claxton (1988) ont également étudié la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* avec la CLD comme seule source de carbone. La CLD a été dégradée en 14 jours pour former les mêmes monohydroCLD et dihydroCLD. En 1996, une archée, *Methanosarcina themophila*, en conditions réductrices a permis la dégradation de 85 % de la CLD en 10 jours conduisant à des composés polaires et apolaires non identifiés (Jablonski et al., 1996).

En 2013, Fernandez-Bayo et collègues ont étudié en laboratoire le devenir de la CLD dans des sols antillais. Ils ont utilisé pour cela de la CLD marquée de manière uniforme à l'isotope radioactif ¹⁴C. Aucun produit de transformation n'a pu être observé au cours de leurs expériences. Il faut cependant rappeler, qu'à cette époque, comme pour les études antérieures, seuls trois produits de transformation (PTs) de la CLD étaient connus : la 8-monohydroCLD, la 2,8-dihydroCLD et le CLDOH. Une faible production de ¹⁴CO₂ a bien été mesurée au cours du temps en atteignant quasiment un palier vers 200 jours. La quantité totale de radioactivité libérée représentait entre 3 et 5 % de la radioactivité totale de

la CLD initialement introduite. Ces résultats laissent donc entrevoir une possible mais faible bio-minéralisation de la CLD dans ces conditions (Fernández-Bayo et al., 2013).

Récemment, des travaux de recherche ont confirmé la possibilité de biodégradation en anaérobiose de la CLD. Trois bactéries des genres *Citrobacter* (*Citrobacter* sp.92 et *Citrobacter* sp.86) et *Desulfovibrio* (*Desulfovibrio* sp.86) ont pu être isolées et se sont révélées efficaces pour dégrader la CLD, avec la formation des mêmes PTs : la 10-monohydroCLD (A1 : $C_{10}Cl_9H_3O_2$), des penta- et tétrachloroindènes (B1 : $C_9Cl_5H_3$, B2 et B3/B4 : $C_9Cl_4H_4$), ainsi que des acides tétra- et trichloroindènedicarboxyliques (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019). Dans des conditions particulières (fiolle scellée et changement des conditions du milieu), *Desulfovibrio* sp.86 peut également conduire à la conversion de la CLD en chlordecthiol (F1 : $C_{10}Cl_{10}SH_2$), l'analogue soufré du chlordécol (Figure 1.11) (Della-Negra et al., 2020). Dans un consortium microbien enrichi à partir de boue de station d'épuration, la CLD ainsi que deux PTs obtenus par le procédé ISCR, la 10-monohydroCLD et une trihydroCLD ont été incubées dans des conditions anoxiques (Hellal et al., 2021). La transformation de ces trois molécules en leur analogues chlordecthiol, monohydrochlordecthiol et trihydrochlordecthiol a été observée avec la formation supplémentaire selon les conditions de dérivés S-méthylés.

Outre les composés de la famille A, B et C, des essais de dégradation de la CLD dans des microcosmes de sols naturellement contaminés, en présence d'eau et de vitamine B₁₂ ajoutée, ont montré l'apparition d'autres PTs tels que les polychloroindènedicarboxylates de méthyle (famille D) et les polychloroindènedicarboxylates d'éthyle (famille E) (Chevallier et al., 2019). En conditions microbiologiques, le mécanisme d'ouverture de la cage bishomocubane de la CLD nécessite la présence de corrinoïdes contenant du cobalt, produit par les bactéries (Barbance et al., 2020). La capacité de bactéries à induire la dégradation de la CLD a été confirmée par une autre équipe de recherche qui a détecté des PTs des familles A, B et C dans des expériences de dégradation de la CLD avec des microcosmes de sols de Guadeloupe (Lomheim et al., 2020), allant jusqu'à découvrir un acide indènedicarboxylique totalement déchloré au bout de plusieurs mois/années d'incubation (Lomheim et al., 2021). Un schéma récapitulatif des différentes voies de dégradation et de transformation de la CLD est présenté à la Figure 1.11.

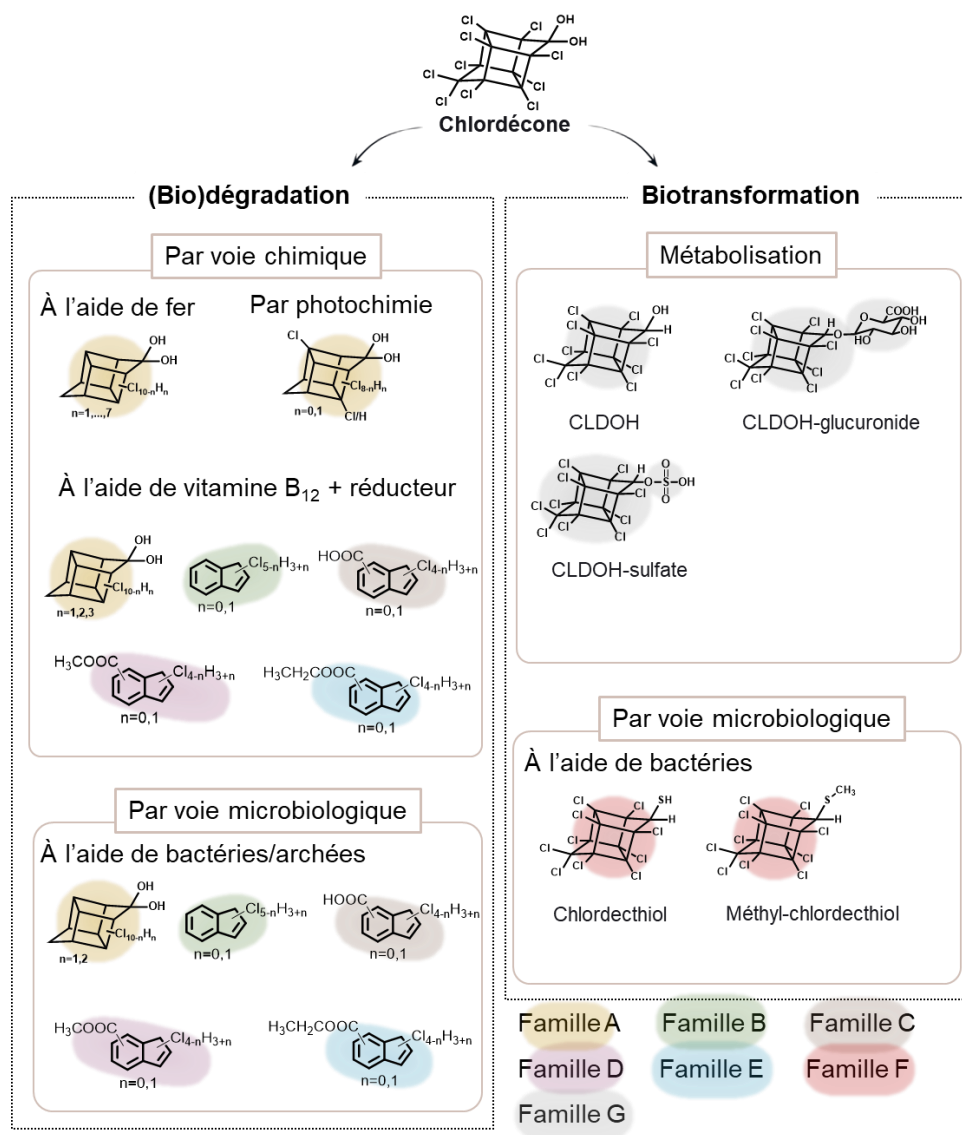


Figure 1.11. Schéma récapitulatif du devenir de la CLD par (bio)dégradation et de la biotransformation avec l'obtention de plusieurs produits de transformation en fonction des conditions utilisées. Une couleur a été assignée pour chaque famille de PTs.

2. Méthodes analytiques pour le dosage d'organochlorés

Les produits de transformation de la CLD ont des propriétés physico-chimiques différentes de la CLD pouvant entraîner des comportements différents lors des étapes d'extraction et d'analyse. Par analogie de structure, ces composés peuvent avoir des comportements proches d'autres composés organochlorés. Par exemple, les composés de structure polychloroindène (famille B) sont proches des hexachlorobenzènes, polychlorobiphényles et des hexachlorocyclohexanes, et les acides polychloroindène-carboxyliques (famille C), proches de l'acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique. La recherche bibliographique s'est donc étendue sur les différentes méthodes d'extraction et d'analyse des composés organochlorés.

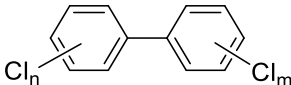
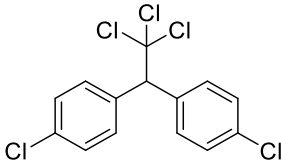
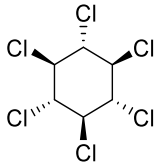
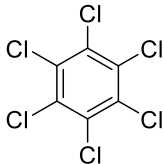
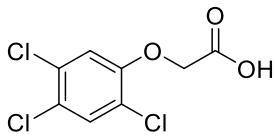
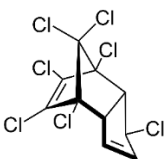
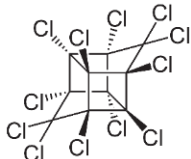
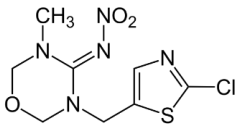
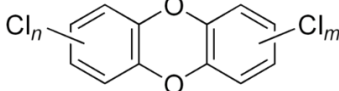
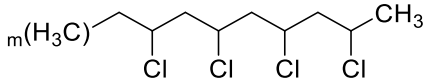
2.1 Généralités sur les organochlorés

Les composés organochlorés (OCs) sont des molécules organiques synthétisées par l'Homme comportant au moins un atome chlore. Les OCs regroupent un grand nombre de composés, parmi lesquels les solvants chlorés (chlorure de méthyle, perchloroéthylène), les polychlorobiphényles (PCBs), décrits pour la première fois en 1881 (Schmidt & Schultz, 1881), les dioxines, les pesticides organochlorés (OCPs), les paraffines chlorées ou plus récemment certains néonicotinoïdes. Parmi les OCPs, nous pouvons distinguer la famille du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) et analogues, l'hexachlorobenzène (HCB) et autres polychlorobenzènes, les hexachlorocyclohexanes (HCHs) et analogues, ainsi que les OCPs issus de l'hexachlorocyclopentadiène (aldrine, dieldrine, chlordécone et mirex notamment) (Tableau 1.1) (Chopra et al., 2011).

Leur utilisation s'est intensifiée dès les années 1940 avec notamment l'utilisation du DDT lors de la Seconde Guerre mondiale pour lutter contre des épidémies en s'attaquant aux insectes vecteurs et, par la suite, dans l'agriculture (Bonney, 2012). Afin d'être toujours plus efficace face à des nuisibles de plus en plus résistants, leur utilisation n'a cessé de croître avec l'augmentation des doses appliquées et la synthèse de nouvelles molécules (Nauen, 2007). Certains pesticides ne sont pas spécifiques à un nuisible et peuvent avoir des effets néfastes sur des cibles collatérales (Chopra et al., 2011). De nombreuses études sur les pesticides organochlorés ont montré leur grande persistance dans l'environnement et dans les organismes, voire leur bioamplification dans la chaîne alimentaire (Howard, 1991). L'âge d'or des OCPs s'est arrêté dans les années 1970 après l'interdiction de l'utilisation du DDT en premier, puis de plusieurs autres OCPs (Bonney, 2012; Chopra et al., 2011). La plupart sont aujourd'hui inscrits sur la liste des Polluants Organiques Persistants (POP) définie par la convention de Stockholm comme l'hexachlorobenzène (HCB), le lindane, le mirex ou la chlordécone (UNEP, 2009). Cette convention a pour but d'encadrer l'utilisation des polluants organiques persistants afin de protéger les populations et l'environnement. Bien que leur utilisation soit interdite depuis des décennies pour certains, leur détection dans l'environnement est encore possible.

Des nouvelles générations de pesticides ont été développées depuis, comme les organophosphorés qui ont remplacé les OCPs ou encore les néonicotinoïdes plus récemment. Ainsi, de nombreuses recherches sont toujours en cours aujourd'hui afin de développer des techniques d'analyse toujours plus performantes pour ces composés organochlorés dans des matrices environnementales mais aussi biologiques, d'origine animale par exemple, afin de surveiller leur devenir dans l'environnement et l'exposition éventuelle des populations.

Tableau 1.1. Illustration de différentes familles de composés organochlorés

Familles	Exemples de molécules
Polychlorobiphényle	
DDT et analogues	 <p style="text-align: center;">DDT</p>
Hexachlorocyclohexane et analogues	 <p style="text-align: center;">β-HCH</p>
Hexachlorobenzène et analogues	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="667 898 831 1099">  <p style="text-align: center;">HCB</p> </div> <div data-bbox="959 913 1385 1084">  <p style="text-align: center;">Acide 2,4,5-trichloro-phénoxyacétique</p> </div> </div>
Dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="635 1137 799 1301">  <p style="text-align: center;">Heptachlore</p> </div> <div data-bbox="1066 1137 1257 1301">  <p style="text-align: center;">Mirex</p> </div> </div>
Néonicotinoïde et pyréthinoïde	 <p style="text-align: center;">Thiaméthoxame</p>
Dioxines	
Paraffines chlorées	

OCPS

2.2 Méthodes d'extraction pour les organochlorés

Les composés organochlorés sont des molécules généralement peu polaires en raison, entre autres, de la présence de plusieurs atomes de chlore. Au cours des années et des évolutions, des méthodes analytiques adaptées pour cette classe de composés ont été développées. En fonction de la matrice étudiée, solide ou liquide, différentes méthodes d'extraction suivies par des méthodes d'analyse de plus en plus sensibles et sélectives sont apparues.

2.2.1 Méthodes d'extraction des matrices solides

2.2.1.1 Extraction solide-liquide simple

L'extraction solide-liquide a pour but d'extraire ou de dissoudre des composés contenus dans une matrice solide en l'immergeant dans un liquide (Leybros & Frémeaux, 1990). Plusieurs étapes entrent en jeu : i) le solvant est transféré à la surface de la matrice, ii) le solvant pénètre dans les pores de la matrice, iii) le composé est dissous dans le solvant et iv) le composé est transporté, via le solvant, hors de la matrice (Chanioti et al., 2014). Afin d'améliorer les rendements d'extraction, plusieurs extractions successives peuvent être réalisées. Le solvant d'extraction joue un rôle important pour les rendements d'extraction. En effet, le composé étudié doit avoir une meilleure affinité pour le solvant que pour la matrice sur laquelle il est adsorbé.

Dans le sol, plusieurs solvants présentent de bons rendements d'extraction comme l'ACN pour le HCH, le DDT et l'heptachlore à contrario de l'acétone qui extrait en parallèle une part non négligeable d'interférents matriciels (Balnova & Balinov, 1991). Pour le chlordane, les mélanges de solvant hexane/acétone ou hexane/propan-2-ol (50:50) permettent d'avoir de bons rendements d'extraction tout en limitant l'extraction de résidus matriciels contrairement au méthanol ou à l'éthanol (Saha, 1971). L'extraction solide-liquide simple peut être réalisée par macération de la matrice dans le solvant, par agitation mécanique (Balnova & Balinov, 1991) ou par homogénéisation (Saha, 1971). Cette méthode d'extraction a été utilisée récemment pour extraire plusieurs OCPs, entre autres le lindane, le HCB, l'aldrine, la dieldrine et le mirex contenus dans des boues d'épuration et des sols avec de l'ACN. Suivie d'une simple analyse GC-MS, de bonnes performances analytiques ont été obtenues, avec des rendements d'extraction compris entre 70 et 116 % et des limites de quantification entre 1 et 40 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour les deux matrices (Mesquita et al., 2018).

Afin d'améliorer cette méthode d'extraction, de nouvelles méthodes d'extraction solide-liquide ont été développées au cours des dernières décennies comme l'extraction Soxhlet, l'extraction par liquide pressurisé (ASE), l'extraction assistée par micro-ondes ou encore l'extraction par fluide supercritique.

2.2.2 Extraction Soxhlet

Durant plus d'un siècle, l'extraction Soxhlet a été la méthode d'extraction la plus utilisée. Décrite pour la première fois en 1879 par Franz von Soxhlet, l'extraction se déroule dans une verrerie spécialement conçue appelée l'extracteur de Soxhlet (Figure 1.12) (Soxhlet, 1879). L'échantillon solide est placé dans un corps en verre au-dessus d'un ballon contenant le solvant. Le solvant est chauffé et les vapeurs vont se condenser dans le réfrigérant. La matrice est continuellement alimentée en solvant « frais » au fur et à mesure de sa distillation. Le solvant contenant les composés va remplir le siphon qui renvoie le solvant dans le ballon au fur et à mesure de son remplissage (Luque de Castro & García Ayuso, 2000). Plusieurs cycles successifs peuvent être réalisés, entraînant un épuisement de la matrice des composés extractibles. La méthode Soxhlet présente un faible coût de mise en œuvre rendant la méthode très prisée. Cependant, la méthode est très chronophage (plusieurs heures d'extraction) et de possibles dégradations des composés thermolabiles peuvent intervenir (López-Bascón & Luque de Castro, 2020).

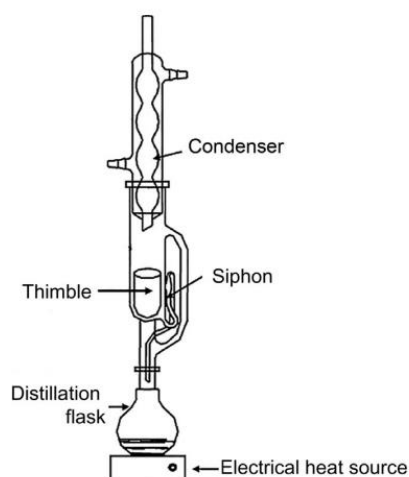


Figure 1.12. Schéma de l'extracteur Soxhlet (López-Bascón & Luque de Castro, 2020)

Cette méthode d'extraction a été très utilisée jusqu'au début des années 2000. Le mélange hexane/acétone est le mélange le plus couramment utilisé lors de l'extraction des composés organochlorés par Soxhlet pour l'analyse de HCH, de DDT et dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène (Barriada-Pereira et al., 2003; Tan & Vijayaletchumy, 1994) et de PCB (Sporring et al., 2005). En effet, ce mélange de solvants a montré de bons rendements d'extraction et son évaporation lors de l'étape de concentration est rapide. D'autres mélanges de solvant sont utilisés comme l'hexane/dichlorométhane pour l'analyse du DDT, de dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène ou du HCH (Helaleh et al., 2005). Récemment, l'extraction Soxhlet a été utilisée pour extraire 14 OCPs dont les HCHs et les DDTs avec du dichlorométhane pur et analysés en GC-ECD permettant d'obtenir des limites de détection (LODs) inférieures à 13 ng.kg⁻¹ (Kafaei et al., 2020).

Cependant, cette méthode peut difficilement être appliquée sur un grand nombre d'échantillons en parallèle, à cause des temps très longs d'extraction, même si de nouvelles générations d'appareils permettant l'extraction automatique et simultanée de plusieurs échantillons sont apparues.

2.2.2.1 Extraction par liquide pressurisé

L'extraction par liquide pressurisé (PLE de l'anglais *pressurized liquid extraction* ou aussi couramment appelé *accelerated solvent extraction* (ASE)) a été décrite pour la première fois en 1995 (Richter et al., 1996). Utilisée pour extraire des matrices solides ou semi-solides, cette technique permet d'utiliser une température au-delà de la température d'ébullition d'un solvant, qui, combinée à une surpression, permet de le garder à l'état liquide (Giergielewicz-Mozajska et al., 2001). L'augmentation de la température présente de nombreux avantages. La solubilité des analytes vis-à-vis du solvant est augmentée tout comme la vitesse de diffusion et la vitesse de transfert de masse (Richter et al., 1996). Ces conditions entraînent des changements dans les interactions fortes présentes entre la matrice et les composés, notamment des liaisons de type Van der Waals ou Hydrogène (Suchan et al., 2004), se traduisant par une diminution de la viscosité du solvant. Cela améliore sa pénétration à la surface de la matrice et permet une meilleure récupération des analytes (Vazquez-Roig & Picó, 2015). Enfin, augmenter la pression dans la cellule d'extraction permet aussi de « pousser » le solvant à l'intérieur des pores, améliorant l'extraction des composés (Giergielewicz-Mozajska et al., 2001). Le schéma de l'ASE est présenté sur la Figure 1.13.

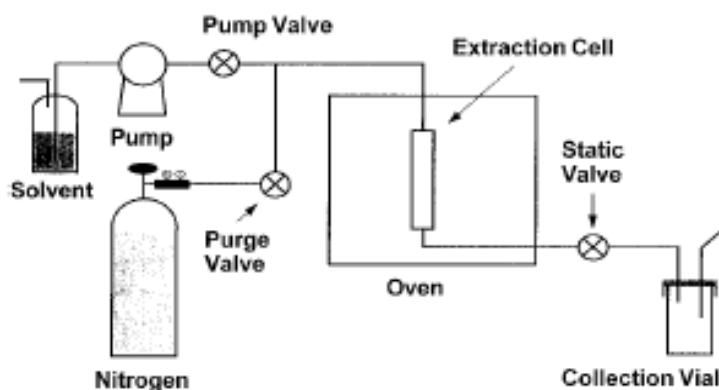


Figure 1.13. Schéma de l'extraction ASE (Richter et al., 1996)

Dans un premiers temps, l'échantillon doit être lyophilisé avant l'extraction afin que la pénétration du solvant à l'intérieur des pores soit optimale (Vazquez-Roig & Picó, 2015). L'ajout d'un agent dispersant comme la Terre de diatomée ou du sulfate de sodium est effectué dans la cellule d'extraction pour sécher davantage l'échantillon et améliorer les rendements d'extraction (Andreu & Picó, 2019; Rouvière et al., 2012). Deux modes d'extraction existent : le mode de préchauffage ou le mode de préremplissage. Pour le premier, la cellule est préchauffée à la température désirée. Le solvant est ensuite

chargé dans la cellule et l'extraction des composés s'opère. Une étape de purge permet un renouvellement du solvant en récupérant l'extrait afin de réaliser plusieurs cycles d'extraction et d'épuiser la matrice en composés extractibles. Pour la méthode de pré-remplissage, le solvant est injecté avant le pré-chauffage (Richter et al., 1996).

En plus d'être automatisable, l'ASE présente l'avantage d'avoir des temps d'extraction plus faibles que pour l'extraction classique Soxhlet tout en ayant les mêmes rendements d'extraction (Suchan et al., 2004). De plus, cette méthode utilise peu de solvant en comparaison de la méthode Soxhlet (Giergielewicz-Mozajska et al., 2001). Cependant, plusieurs inconvénients sont à noter. Le principe de la méthode ASE permet d'extraire et de solubiliser les composés, mais également certains interférents matriciels, rendant la méthode peu spécifique. Une étape de purification est souvent nécessaire, surtout lors de l'extraction de matrices complexes telles que les sols et les sédiments (Giergielewicz-Mozajska et al., 2001). L'échantillon devant être séché ou lyophilisé, cela ajoute une étape chronophage qui peut être incompatible avec certains composés semi-volatils. Enfin, en comparaison avec des méthodes d'extraction plus classiques, l'ASE est une méthode relativement onéreuse car elle nécessite l'achat d'un équipement coûteux.

Une méthode officielle a été développée pour l'analyse des OCPs (HCB, DDT, dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène) et des PCBs dans les sols, les sédiments, la boue et l'argile (EPA, 2007a). La méthode utilise un mélange hexane/acétone (1:1), avec une température de 100 °C et une pression de 1500 psi. Ce mélange de solvants est le plus largement utilisé en ASE (Kumar et al., 2011; Moreno et al., 2007) mais d'autres mélanges de solvants peuvent être employés comme le système DCM/hexane (Duodu et al., 2016; Leyva-Morales et al., 2015; Lu & Liu, 2016). Moreno et collègues (2007) préconisent une température de 50 °C afin de limiter l'extraction d'interférents matriciels ainsi que la dégradation de pesticides thermolabiles comme le HCH et le DDT. Dans le cadre du développement d'une méthode d'analyse non-ciblée dans des boues d'épuration, une méthode d'extraction ASE de 99 molécules de polarités variées contenant, entre-autres, des HCBs et des PCBs a été développée (Veenaas & Haglund, 2017). Une étude sur le solvant d'extraction composé d'hexane avec plusieurs pourcentages de DCM a montré un compromis entre une bonne extraction des composés et une extraction limitée d'interférents matriciels avec un mélange hexane/DCM (80:20).

Bien que l'ASE présente des avantages évidents en termes d'efficacité d'extraction, cette méthode est coûteuse, surtout si on veut l'accessoiriser pour automatiser les différentes étapes et ainsi augmenter le débit d'échantillons extraits et évaporés. Dans ce contexte, des méthodes plus accessibles ont donc été développées.

2.2.2.2 Extraction QuEChERS

L'extraction QuEChERS de l'anglais *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe* (Rapide, Facile, Peu cher, Efficace, Robuste et Sécuritaire) est une technique d'extraction développée dans les années 2000 (Anastassiades et al., 2003). L'extraction QuEChERS a été développée dans le but d'avoir une méthode simple et accessible qui inclut une étape de purification, tout en réduisant la consommation excessive de solvant. Développée dans un premier temps pour l'analyse de polluants organiques dans la nourriture, la méthode QuEChERS a ensuite été adaptée à l'analyse de matrices environnementales en modifiant la nature des sels et de la phase solide dispersive (d-SPE), utilisée pendant l'étape de purification, en fonction des analytes et des matrices analysés (González-Curbelo et al., 2015). L'extraction QuEChERS se déroule souvent en deux étapes. Dans un premier temps, l'échantillon est extrait avec de l'ACN. L'ajout de sels permet d'augmenter la force ionique pour avoir une séparation de phases entre l'eau contenue dans la matrice et l'ACN. Après centrifugation, l'extrait peut être, dans un deuxième temps, purifié sur une phase solide dispersive (d-SPE) (Figure 1.14). Cette méthode se veut universelle par l'utilisation d'ACN qui permet d'extraire une large gamme de polluants sans pour autant extraire trop d'interférents matriciels (Perestrelo et al., 2019).

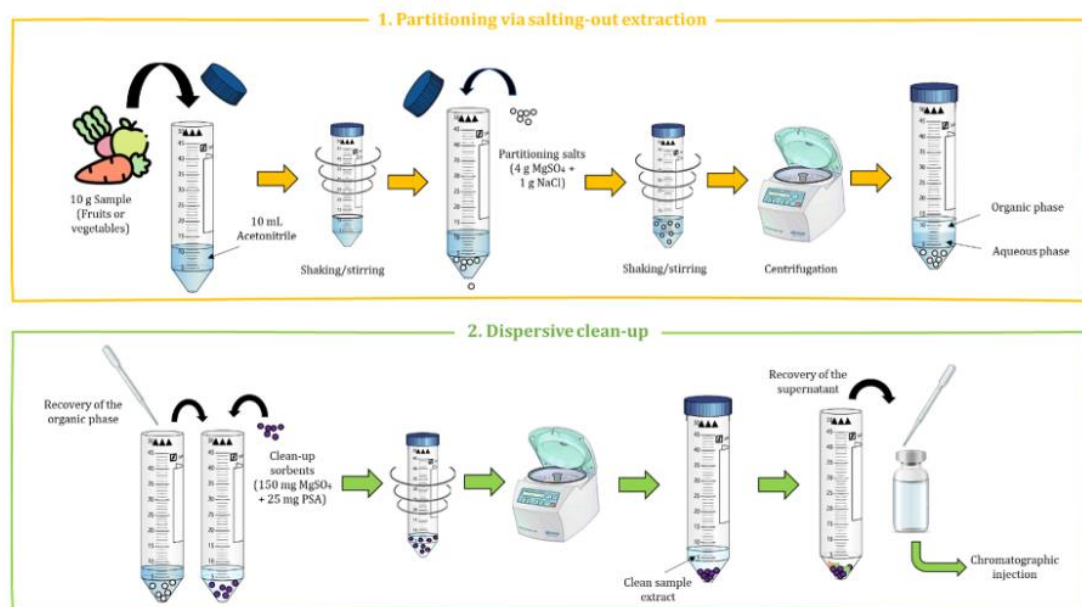


Figure 1.14. Schéma de l'extraction QuEChERS et de l'étape de purification par d-SPE (Casado et al., 2022).

L'extraction de sols ou de sédiments avec la méthode QuEChERS nécessite l'adaptation de quelques paramètres comme l'hydratation de l'échantillon, la quantité d'échantillon à extraire, le solvant d'extraction ou encore les sels utilisés (Vera et al., 2013). Selon l'étude de Correia-Sá et collègues (2013), l'hydratation des sols avant leur extraction est nécessaire afin que le solvant puisse pénétrer dans les pores et ainsi augmenter les rendements d'extraction : 77 à 130 % avec hydratation contre 20 à 46 %

sans (Correia-Sá et al., 2012). Bien que l'ACN soit le solvant conventionnellement utilisé par la méthode QuEChERS (Correia-Sá et al., 2012; Rashid et al., 2010), il est possible d'utiliser d'autres solvants notamment pour l'extraction des OCPs dans le sol. Ainsi, Rouvière et collègues (2012) ont montré que le DCM avait de meilleurs rendements d'extractions pour les composés chlorobenzènes et hydrocarbonés chlorés tandis que les HCHs étaient mieux extraits avec de l'ACN. De plus, le DCM permet d'extraire moins de résidus matriciels. D'autres mélanges de solvants peuvent également être utilisés comme l'acétate d'éthyle/hexane (50:50) ou acétate d'éthyle/toluène (75:25) pour extraire des OCPs et PCBs dans les sédiments (Miossec et al., 2018). Dans le cas d'échantillons environnementaux, l'étape de purification par d-SPE n'est pas souvent réalisée, mais peut être remplacée par d'autres méthodes comme la LLE (Rashid et al., 2010).

2.2.2.3 Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) est une technique d'extraction de matrices solides décrite pour la première fois en 1986 (Ganzler et al., 1986). Aujourd'hui encore, la MAE montre un grand intérêt pour l'extraction de matrices environnementales. Son principe utilise les radiations à des fréquences incluses dans la gamme des micro-ondes (300 à 300 000 MHz) généralement entre 0.9 et 2.45 GHz pour l'usage médical, industriel ou scientifique (Wang et al., 2016). Des phénomènes de rotations dipolaires et de conduction ionique dans le solvant et/ou la matrice se produisent dans la cellule d'extraction entraînant une conversion de l'énergie électromagnétique en chaleur (Destandau et al., 2013). Contrairement aux techniques plus conventionnelles, la MAE a pour caractéristique d'avoir un transfert de masse et de chaleur dans la même direction accélérant l'extraction des composés (Chemat & Cravotto, 2012). En général, le choix du solvant en MAE se fait suivant deux critères : i) une constante diélectrique élevée afin que le solvant pénètre mieux dans la matrice et qu'il absorbe l'énergie des micro-ondes et ii) un facteur de perte élevé, lié à la fois à la constante diélectrique du solvant et à sa capacité à présenter un retard de phase significatif par rapport à celle de l'onde électromagnétique incidente, permettant la meilleure conversion énergie micro-onde – chaleur (Chemat & Cravotto, 2012). Il est aussi possible d'utiliser des solvants transparents aux micro-ondes si la matrice possède un facteur de perte élevé lui permettant d'absorber elle-même les micro-ondes et de s'échauffer (Anizon et al., 2003). Plusieurs autres paramètres doivent être optimisés comme la température, la pression ainsi que la puissance du four à micro-ondes. La MAE est une méthode d'extraction rapide, peu coûteuse en solvant, et facilement automatisable (Wang et al., 2016). Cependant, les appareils commerciaux pour l'extraction MAE sont très onéreux. De plus, la MAE n'est pas une méthode universelle, notamment pour les composés apolaires et l'utilisation de solvant apolaires (Destandau et al., 2013).

De nombreuses études ont été réalisées sur des OCPs contenus dans des matrices environnementales. L'utilisation d'un solvant apolaire comme l'hexane permet une bonne solubilité des OCPs tout en limitant l'extraction des composés matriciels (Molins et al., 1997). Cependant, transparent aux micro-ondes, il est souvent mélangé à un autre solvant. Le mélange hexane/acétone est aussi très utilisé pour la MAE (Barriada-Pereira et al., 2003; Concha-Graña et al., 2010; Wang et al., 2007). Pour les sédiments, l'utilisation d'un système hexane/tétrahydrofurane pour l'extraction des HCHs, DDT et des dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène, donnent des rendements d'extraction meilleurs (73-119 %) que les systèmes hexane/acétone, hexane/méthanol, hexane/acétate d'éthyle ou encore tétrahydrofurane pur (Merdassa et al., 2015).

Le temps d'extraction en MAE est relativement faible, généralement de 10 minutes (Concha-Graña et al., 2003; Sporning et al., 2005), voire 20 minutes (Saim et al., 1997; Wang et al., 2007). La puissance du four utilisée est comprise généralement entre 800 W (Barriada-Pereira et al., 2003; Concha-Graña et al., 2010; Merdassa et al., 2015) et 1200 W (Sporring et al., 2005; Wang et al., 2007). Les températures utilisées pour l'analyse des OCPs varient souvent entre 50 et 145 °C (Barriada-Pereira et al., 2003).

2.2.2.4 Extraction par fluide supercritique

Un corps pur peut se trouver dans un des trois états suivants : l'état liquide, l'état solide ou l'état gazeux. Hannay et Hogarth (1979) ont réalisé une étude sur le dioxyde de carbone (CO₂) en le chauffant au-delà de sa température critique et en l'exposant au-delà de sa pression critique. Le CO₂ ne se trouvait ainsi ni dans un état liquide ni dans un état gazeux mais entre les deux formes. Appelé fluide supercritique, cette forme se caractérise par des conditions de température et de pression supérieures au point critique du composé, modifiant ses propriétés physico-chimiques caractéristiques d'un des trois états fondamentaux, liquide, solide ou gazeux (Figure 1.15). Par exemple, la viscosité du solvant est abaissée tandis que son coefficient de diffusion est plus élevé, ce qui permet de meilleurs rendements d'extraction (Camel, 2001). L'extraction par fluide supercritique (SFE) s'est réellement développée dans les années 1980 avec l'apparition d'appareils commerciaux (Sapkale et al., 2010). Le CO₂ est le fluide supercritique le plus utilisé. En effet, il est non toxique, présent à l'état naturel et son point critique se situe à des températures et pressions facilement atteignables (Perrut, 1999). Le CO₂ est utilisé pour extraire des composés plutôt apolaires. L'ajout d'un solvant appelé « modifiant », comme le méthanol, l'acétone ou l'éthanol par exemple, est nécessaire pour l'extraction de composés plus polaires (Camel, 2001).

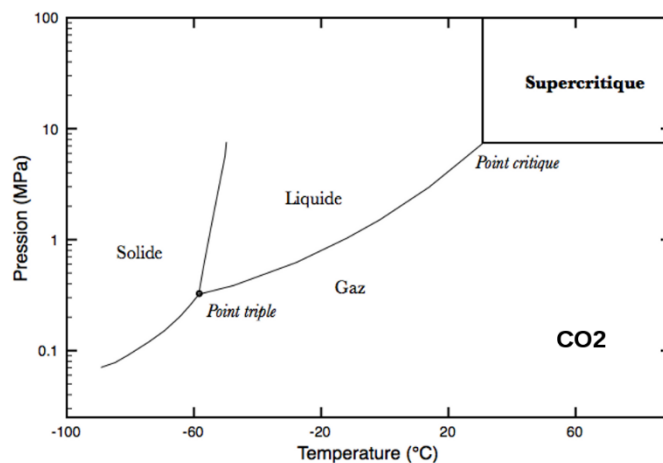


Figure 1.15. Diagramme de phase pression-température du CO₂ (Bouchet Bert-Manoz, 2014).

La SFE offre de nombreux avantages : rapidité, simplicité, bonne sélectivité pour le composé, bons rendements d'extraction et faible consommation de solvant (Gonçalves et al., 2006). Cependant, de nombreux paramètres sont à optimiser ce qui rend le développement analytique fastidieux (Sapkale et al., 2010). Van der Velde et collègues (1992) ont décrit une méthode d'extraction d'OCPs et de PCBs dans les sols. Une extraction de 30 minutes à 50 °C et 20 MPa dans du CO₂ pur permet d'obtenir des rendements de 88 à 101 % dans le sol et le sable avec une collecte des fractions dans l'isooctane. Les OCs apolaires, comme les PCBs, le DDT ou le HCB, s'adsorbent préférentiellement sur des sols à haute teneur en carbone organique et présentent souvent de faibles rendements d'extraction (Van der Velde et al., 1992). En 2007, une méthode officielle d'extraction des PCBs dans les sols a été développée par l'agence de protection de l'environnement américaine (EPA, 2007b). Pour cela, l'échantillon est extrait pendant 50 minutes à 80 °C sous 305 bars par du CO₂. L'extrait est collecté dans l'hexane. L'EPA recommande l'utilisation de pressions légèrement plus faibles pour les OCPs. Lopez-Avila et collègues (1990) ont décrit une méthode d'extraction d'OCPs dans les sols et le sable. Pour les sols, 17 OCPs ont été extraits avec du CO₂ pur à 50 °C et 150 atm pendant 10 minutes, puis à 60 °C et à 200 atm pendant 10 minutes et enfin 10 minutes à 70 °C et 250 atm. Le même protocole d'extraction avec 10 % de méthanol ajouté au CO₂ a été réalisé pour extraire 41 OCPs dans le sable. Dans le sol, des rendements d'extraction compris entre 50 à 104 % ont été obtenus tandis que dans le sable, les rendements d'extraction sont compris entre 79 et 120 % à l'exception du 1,2-dibromo-3-chloropropane (DBCP) (35 %), du chlorobenzilate (28 %) et de l'hexachlorocyclopentadiène (26 %). Pour les OCPs, la température et la pression sont les deux paramètres qui affectent le plus l'extraction. Gonçalves et collègues (2006) ont optimisé les conditions d'extraction des OCPs dans les sols : 120 °C à 50 MPa en présence de CO₂ modifié à 8 % de méthanol pendant 15 minutes.

2.2.2.5 Extraction assistée par ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques qui se répandent à travers des milieux élastiques utilisant des fréquences comprises entre 20 kHz et 10 MHz (Rostagno & Prado, 2013). Les paramètres principaux pour caractériser les ultrasons sont la puissance, la fréquence et la longueur d'onde. L'extraction assistée par ultrasons (UAE) consiste à envoyer une onde sonore vers le milieu liquide engendrant des ondes longitudinales. Celles-ci vont créer des points de compression et de raréfaction sur les molécules du milieu créant des bulles et des cavités (Picó, 2013). Ces bulles vont changer de taille durant les phénomènes de compression et de raréfaction jusqu'à un point critique où elles vont éclater et libérer beaucoup d'énergie (Figure 1.16) (Rutkowska et al., 2017). Cela engendre des ondes de choc aux abords de la matrice créant des phénomènes d'érosion et de fragmentation de la matrice (Chemat et al., 2017). Ainsi, le transfert de masse et la surface de contact sont augmentés, permettant au solvant d'entrer plus facilement dans la matrice dont les tailles de particules sont réduites, améliorant par conséquent l'extraction des composés. Les avantages de l'UAE sont sa rapidité, sa reproductibilité, sa consommation réduite en solvant et sa mise en place facile (Chemat et al., 2017).

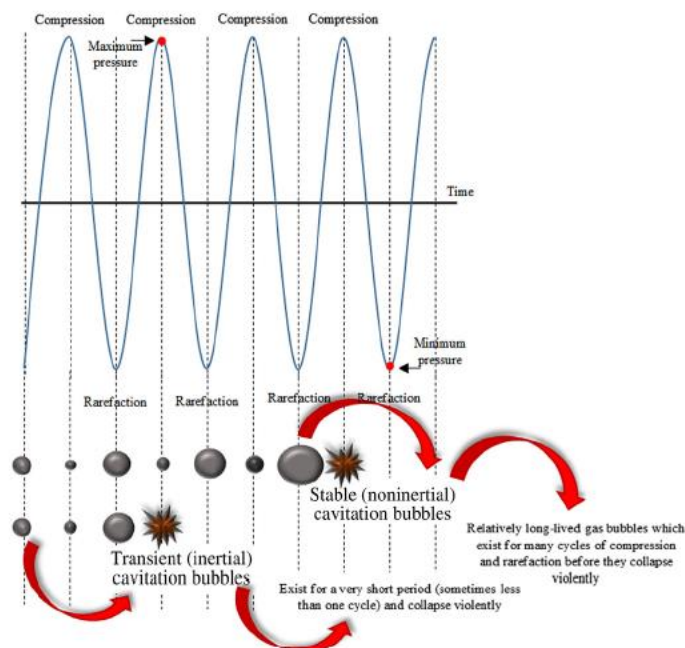


Figure 1.16. Phénomènes de compression et de raréfaction observés lors d'une extraction assistée par ultrasons (Rutkowska et al., 2017).

Vagi et collègues (2007) ont développé une méthode d'extraction d'OCPs dans les sédiments marins par UAE. Les OCPs étudiés (HCH, DDT et dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène) sont apolaires ou moyennement polaires. Dans cette étude, le DCM a montré des meilleurs rendements d'extraction que le méthanol ou l'hexane. L'acétone et l'acétate d'éthyle permettent d'avoir des rendements simi-

laire au DCM mais l'extraction parallèle d'interférents matriciels est plus importante avec ces deux solvants. Une durée d'extraction de 20 minutes a permis d'obtenir des rendements d'extraction compris entre 80 et 109 %. Tor et collègues (2006) ont mis au point une méthode d'extraction des OCPs dans les sols. Le mélange acétone/éther de pétrole permet d'avoir les meilleurs rendements d'extraction suivis de l'acétone, de l'acétate d'éthyle et de l'hexane. Les quatre extractions successives de 20 minutes chacune ont permis d'obtenir des rendements d'extraction compris entre 79 et 91 %. Plus récemment, Tian et collègues (2019) ont développé une méthode d'extraction de 13 OCPs et 7 PCBs dans les sédiments. Cinq grammes de sédiments sont extraits dans un système hexane/DCM (1:1), 2 fois successivement, pendant 20 minutes à température ambiante après une mise en contact de 15 minutes. Une analyse en GC-ECD a permis d'obtenir des LOQs comprises entre 0.5 et 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

2.2.2.6 Comparaisons des méthodes d'extraction

Les différentes techniques d'extraction ont été développées dans le but d'outrepasser les inconvénients des autres méthodes. La réduction du temps d'extraction ainsi que l'utilisation d'un plus petit volume de solvant, de préférence moins toxique, sont des paramètres très importants dans le développement d'une nouvelle méthode.

Si on exclut l'extraction QuEChERS, pour la consommation en solvant, la méthode Soxhlet (150 ml) est la méthode qui consomme le plus de solvant suivie de la MAE (40 à 70 ml), puis de l'ASE (25 ml) et de la SFE (12 ml) (Saim et al., 1997). Le temps d'extraction est aussi un critère important. L'extraction Soxhlet est une méthode très chronophage avec des temps d'extraction pouvant aller jusqu'à 24 h. Les méthodes d'extraction développées par la suite sont plus rapides comme la SFE (1 h), la MAE (20 min) et l'ASE (12 min) (Saim et al., 1997). Wang et collègues (2007) ont obtenu des rendements d'extraction meilleurs pour l'ASE en comparaison avec la MAE ou la méthode Soxhlet. Cependant, les rendements d'extractions de l'ASE et de la MAE restent comparables pour l'analyse des pesticides, PCBs et PAHs dans les sols et dans les sédiments (Camel, 2001). La MAE, l'ASE et l'UAE présentent des similarités en terme de sensibilité, de sélectivité et de précision mais les rendements d'extractions sont plus importants pour la MAE et l'ASE (Picó, 2013).

La SFE est une méthode très sélective des composés étudiés grâce à l'utilisation du CO_2 , qui, contrairement aux solvants utilisés, n'extrait que très peu d'interférents matriciels simultanément (Camel, 2001). Ainsi, cette méthode nécessite rarement des étapes de purification supplémentaires contrairement à l'ASE, la MAE ou encore l'UAE. L'extraction QuEChERS ainsi que la SPE représentent des techniques d'extraction peu onéreuses puisqu'il n'y a pas besoin d'appareil coûteux comme pour la SFE, la MAE ou l'ASE.

2.2.3 Extraction des matrices liquides

2.2.3.1 Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide (LLE) est l'une des extractions les plus anciennement et plus couramment utilisées. Les premières synthèses des solvants organiques à la fin du 19^{ème} siècle ont permis l'apparition de cette méthode d'extraction (Abe et al., 2010). Cette technique a connu un vrai essor à partir des années 1940 grâce à l'industrialisation notamment dans le domaine du nucléaire et de la pétrochimie. La LLE a pour principe de mettre en contact une solution A contenant le composé à étudier avec un solvant organique B non miscibles entre eux dans une ampoule à décanter sous agitation afin que le composé soit transféré dans le solvant B. Le choix du solvant est important puisque le coefficient de partage du composé doit être en faveur du solvant B. Cette technique a pour avantage d'être une technique accessible en termes de verrerie et permet d'avoir une étape ultérieure de concentration. Cependant, la LLE est coûteuse en solvant et en temps lorsque de multiples extractions successives sont nécessaires dans le cas où les coefficients de partage ne sont pas favorables.

La LLE est parfois utilisée pour extraire des OCPs contenus dans des échantillons d'eau. L'*American Public Health Association* (APHA), l'*American Water Works Association* (AWWA) et la *Water Environment Federation* (WEF) ont développé des méthodes standardisées pour l'analyse des OCPs et des PCBs dans les eaux (American Public Health Association, 2022). L'eau est extraite avec un mélange éther diéthylique/hexane ou un mélange DCM/hexane. L'extraction des OCPs et des PCBs contenus dans l'eau de décharge municipale et dans l'eau industrielle a été réalisée avec du DCM et l'extrait est ensuite transféré dans de l'hexane. Le Laboratoire départemental d'analyses de la Drôme (LDA26) utilise comme méthode de référence la LLE pour l'analyse multirésidus de 476 composés. Le protocole consiste à extraire un litre d'échantillon avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle (80/20) à plusieurs pH. Une double analyse GC-MS/MS et LC-MS/MS est ensuite réalisée (Rochette et al., 2017). Ize-Iyamu et collègues (2007) ont eux aussi extraits les OCPs avec un mélange éther diéthylique/hexane (15:85) mais avec deux extractions successives. Kafilzadeh et collègues (2012) ont quant à eux utilisé le mélange DCM/hexane avec trois extractions successives. Pandit et collègues (2006) et Jayashree et collègues (2007) ont extrait deux fois successivement l'eau de mer et trois fois successivement de l'eau souterraine à l'hexane pur respectivement.

2.2.3.2 Extraction sur phase solide

Le principe de l'extraction sur phase solide (SPE) a été mis au point dans les années 1950 afin d'isoler des composés organiques de l'eau à l'aide de charbon actif (Poole, 2002). Les cartouches SPE ont été introduites en 1978 et le développement de sorbant SPE a commencé dès le milieu des années

1980. Développée dans un premier temps en complément de l'extraction liquide-liquide comme étape de purification, la SPE est devenue une méthode d'extraction à part entière (Poole, 2002). La SPE est basée sur la distribution sélective des composés entre le sorbant et la phase liquide contenant les composés (Buszewski & Szultka, 2012). Ses objectifs sont de permettre un échange des composés contenus dans des milieux aqueux vers des solvants organiques, ainsi que de concentrer et de purifier l'échantillon (Andrade-Eiroa et al., 2016). L'extraction SPE contient plusieurs étapes (Figure 1.17). Dans un premier temps, une étape de pré-conditionnement de la cartouche a lieu afin d'activer les sites d'adsorption. La cartouche est ensuite lavée avec le même solvant que celui de l'échantillon. L'échantillon est alors percolé sur la cartouche. Les interférents peuvent être élués dans un premier temps avec un solvant non sélectif pour les composés étudiés afin de les retirer du système. Les composés sont ensuite élués avec un ou plusieurs solvants adéquats (Camel, 2001). Elle permet aussi de concentrer l'extrait puisqu'un grand volume d'échantillon aqueux peut être chargé sur la cartouche tandis qu'un petit volume de solvant d'éluion est utilisé pour récupérer les composés étudiés. Plusieurs types de sorbant sont disponibles en fonction des composés et de la matrice analysée.

La SPE a pour avantages d'être une méthode peu chère, peu chronophage, avec une faible consommation de solvant et ne formant pas d'émulsion (Berrueta et al., 1995). L'évolution des systèmes de SPE permet aujourd'hui de réaliser des extractions de manière automatisée avec des systèmes SPE reliés directement à des machines analytiques (SPE en ligne).

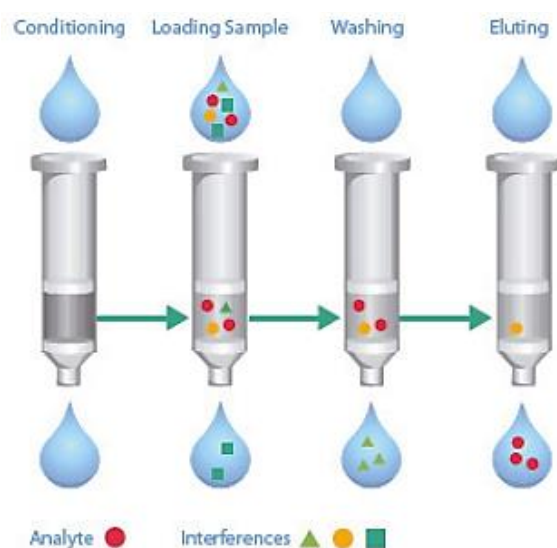


Figure 1.17. Schéma d'une extraction sur phase solide d'après Humbert, 2010.

Čonka et collègues (2005) ont développé une méthode simple d'analyse des PCBs et OCPs dans le sang. Après dénaturation des protéines avec un mélange eau/isopropanol (85:15), le sang est déposé sur une cartouche SPE de silice greffée avec des chaînes alcanes à 18 carbones (C18). L'éluion des composés organochlorés se fait dans ce cas avec un mélange hexane/DCM (1:1) donnant des rendements

d'extractions compris entre 88 et 120 %. Dans l'urine, Columé et collègues (2001) ont développé une méthode d'extraction des OCPs et des pyréthriinoïdes. Dans ce cas, la cartouche en phase inverse C18 présente de meilleurs rendements que la cartouche en phase normale composée de gel de silice. L'acétate d'éthyle est le solvant d'élution qui présente les meilleurs rendements en comparaison avec le méthanol ou l'hexane. Cette méthode permet d'éliminer efficacement les interférents matriciels (Columé et al., 2001). Capiello et collègues (2011) ont étudié les OCPs (DDT et dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène) et les herbicides auxiniques dans l'eau de rivière. Les composés étudiés sont extraits sur une cartouche SPE en carbone graphite, permettant d'extraire des composés acides et très solubles grâce à des interactions électrostatiques. Les composés sont élués avec du méthanol, un mélange méthanol/DCM puis du DCM. Après purification, des rendements d'extraction compris entre 65 et 135 % pour les OCPs ont été obtenus. Afin d'extraire une plus large gamme de composés, d'autres phases stationnaires ont été développées. La cartouche HBL est une cartouche possédant des sites lipophiles et hydrophiles qui permet d'extraire aussi bien les composés apolaires que les composés faiblement polaires (El-Osmani et al., 2014). Avec cette cartouche, nombre d'OCPs peuvent être élués avec un mélange méthanol/acétate d'éthyle (1:1).

2.2.3.3 Micro-extraction sur phase solide

Contrairement aux autres méthodes d'extraction, la méthode de micro-extraction sur phase solide (SPME) est une méthode qui n'utilise pas de solvant. Décrite pour la première fois en 1989 par Belardi et Pawliszyn, la méthode d'extraction utilise une fibre en silice recouverte d'un polymère généralement hydrophobe, support solide pour extraire les analytes (Belardi & Pawliszyn, 1989). Le principe de la SPME se base sur la partition du composé entre la matrice et le revêtement de la fibre jusqu'à atteindre un état d'équilibre. Durant une extraction, l'échantillon généralement aqueux est placé dans un incubateur à une température donnée et sous agitation. Dans un second temps, la fibre est insérée dans l'échantillon soit en immersion (la fibre plonge directement dans l'échantillon), soit en espace de tête (la fibre se trouve dans la partie gazeuse du flacon d'injection). Après l'extraction, la fibre est directement insérée dans l'injecteur de l'appareil analytique afin d'être désorbée à haute température (Aulakh et al., 2005). La SPME peut aussi être utilisée en LC. Pour cela, la fibre sera désorbée par les phases mobiles utilisées pour l'analyse à l'aide d'une valve d'injection (Figure 1.18) (Kataoka et al., 2000). Méthode verte, la SPME est rapide et automatisable. Elle permet de concentrer l'échantillon et de le purifier parallèlement. De plus, la fibre peut être réutilisée un certain nombre de fois après nettoyage contrairement aux cartouches SPE. Cependant, la fragilité et l'encrassement des fibres peuvent rendre difficile une longue série d'analyses.

La SPME a d'abord été mise au point pour extraire des analytes contenus dans l'eau avec une fibre de silice recouverte d'un polymère en polydiméthylsiloxane (PDMS) (Belardi & Pawliszyn, 1989). Pour les échantillons environnementaux aqueux, la SPME représente une technique de choix. En 1996, Magdic et Pawliszyn décrivent une méthode d'extraction de 18 OCPs (HCH, DDT et cyclodiènes) avec une fibre en PDMS suivie d'une analyse en GC-MS et en GC-ECD. Les différences d'affinités des composés avec la fibre engendrent des temps compris entre 15 et 180 minutes pour atteindre l'équilibre. Un compromis est trouvé pour un temps d'extraction de 90 minutes. L'ajout de sel (10 % de NaCl) permet d'augmenter les rendements d'extraction de 12 OCPs (Magdic & Pawliszyn, 1996). Récemment, Jabali et collègues (2019) ont développé une méthode d'extraction SPME-GC-MS/MS de 48 pesticides, dont 9 OCPs et 15 organophosphorés (OPPs), dans de l'eau. Une extraction de 45 minutes à 60 °C sous agitation a permis d'atteindre des rendements d'extraction compris dans un intervalle de 74 à 100 %. L'agitation de l'échantillon tout comme l'augmentation de la température d'extraction sont importantes car elles permettent d'atteindre plus rapidement l'équilibre (Jabali et al., 2019). Doong et Liao (2001), ont décrit une méthode d'extraction SPME en espace de tête pour l'analyse de 18 OCPs dans les sols suivie d'une analyse en GC-ECD. Les fibres en PDMS 100 µm et en PDMS/Divinylbenzène (PDMS/DVB) montrent de bons rendements d'extraction. La fibre en PDMS/DVB extrait plus favorablement les composés volatils pouvant inclure des interférents matriciels non désirés. Avec un temps d'extraction de 60 minutes à 70 °C, des rendements d'extractions de 68 à 127 % sont atteints avec une déviation de la précision n'excédant pas 26 % (Doong & Liao, 2001).

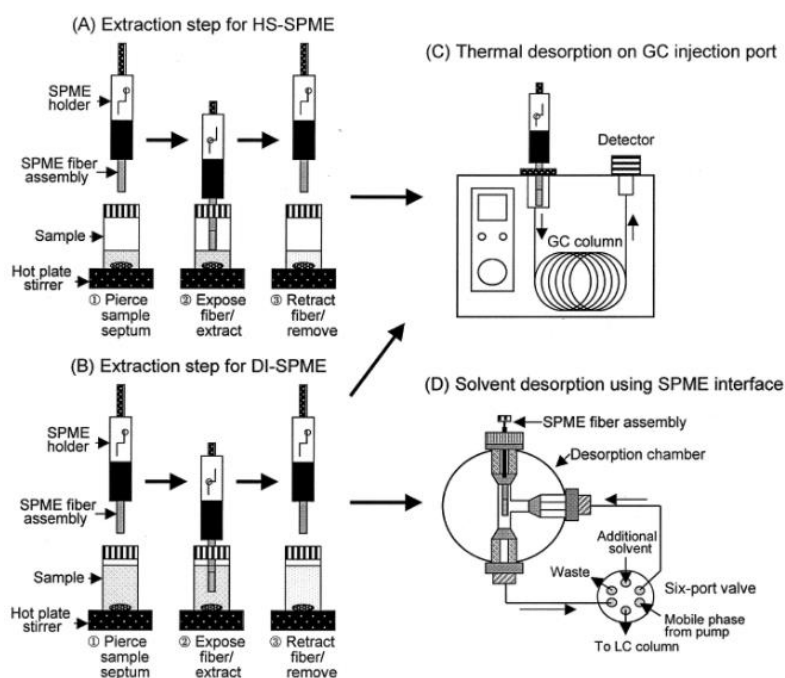


Figure 1.18. Schéma de l'extraction SPME se déroulant : (A) en espace de tête et (B) en immersion directe suivie d'une désorption thermique en GC (C) ou en désorption par solvant en LC (D), d'après Kataoka et al., 2000.

2.2.4 Les échantillonneurs passifs ou POCIS

Les POCIS (*polar organic chemical integrative sampler*) sont des échantillonneurs passifs développés au début des années 2000 et brevetés en 2002 (Petty et al., 2002). Ces échantillonneurs sont composés d'un sorbant placé entre deux membranes en polyéthersulfone, elles-mêmes placées entre deux anneaux en acier inoxydable (Figure 1.19). Les membranes en polyéthersulfone sont constituées de micropores qui permettent de filtrer l'eau environnementale, autorisant sélectivement l'accumulation sélective des composés d'intérêt et non des particules solides en suspension, ni des macromolécules et des microorganismes de diamètre supérieur à la taille des pores. En effet, au contact de l'eau, un biofilm peut se former sur les sorbants POCIS, qui sera par la suite très difficilement retirable du sorbant (Alvarez et al., 2007). Le dosage des composés comprendra alors la quantité adsorbée sur le sorbant mais également sur le biofilm. L'utilisation de ces membranes permet donc de limiter l'encrassement biologique du sorbant. Les anneaux en acier sont utilisés afin d'assurer l'étanchéité du dispositif par compression mécanique de la membrane et l'acier est choisi pour son inertie vis-à-vis de l'extraction (Salim & Górecki, 2019). Plusieurs sorbants ou mélanges de sorbants existent en fonction de la polarité des composés étudiés. Le HLB (*hydrophilic-lipophilic-balanced copolymer*) est couramment utilisé comme sorbant dans les dispositifs POCIS. Utilisé également comme sorbant pour l'extraction SPE, il permet d'extraire préférentiellement des composés polaires de faibles poids moléculaires (Dias & Poole, 2002). Le mélange triphasé est quant à lui constitué d'Isolute ENV+ (résine de copolymère de polystyrène et de divinylbenzène) et d'Ambersorb 1500 (résine macro-réticulée de styrène-divinylbenzène riche en soufre pyrolysé) légèrement dispersé sur des billes S-X3 (copolymère de styrène divinylbenzène poreux) (Alvarez et al., 2007).

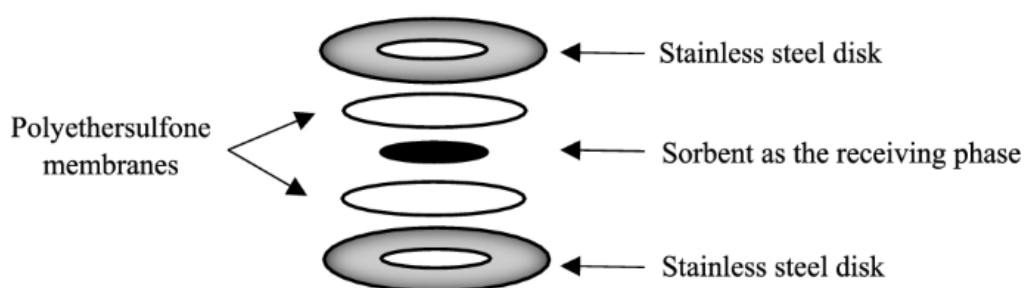


Figure 1.19. Schéma d'un dispositif POCIS, d'après Godlewska et al., 2021

Les échantillonneurs passifs présentent plusieurs avantages tels que leur facilité d'utilisation, la concentration de l'échantillon permettant d'abaisser les LODs, ainsi que leur coût relativement faible. De plus, l'échantillonneur passif permet d'avoir une vue moyenne de la contamination sur le temps de mise en contact avec l'échantillon, permettant de prendre en compte les différents événements climatiques

(pluie, ruissellement) contrairement à l'échantillonnage actif qui ne traduit que la contamination au moment du prélèvement (Godlewska et al., 2021). Cependant, les dispositifs POCIS ne permettent pas de retenir efficacement les composés organiques fortement hydrophiles et ioniques. De plus, ces dispositifs nécessitent une étape d'extraction supplémentaire du sorbant pour pouvoir analyser les composés accumulés (Alvarez et al., 2007).

Une méthode multirésidus comportant 227 composés a été développée pour analyser la contamination des cours d'eau. Les dispositifs POCIS constitués de HLB ont été extraits avec du méthanol et l'extrait a été analysé en LC-MS/MS permettant d'atteindre des niveaux de quantification entre 0.1 to 25 ng/POCIS (Van Metre et al., 2017).

2.3 Les méthodes de purification

Les matrices environnementales ou animales sont souvent des matrices complexes. De nombreux interférents matriciels peuvent donc être extraits. Lors de l'analyse, ces interférents vont avoir des effets négatifs comme une co-élution avec les composés en chromatographie, une suppression ou une augmentation du signal en spectrométrie de masse et/ou engendrer un encrassement important des différentes parties des appareils analytiques. Il est souvent nécessaire d'ajouter une étape de purification à la préparation de l'échantillon (Pionke & Chesters, 1968).

2.3.1 La partition liquide-liquide

La LLE peut être utilisée comme méthode de purification avec deux solvants non miscibles et ayant des polarités différentes. Ainsi, les composés étudiés vont être séparés des interférents matriciels. Cependant, des pertes de composés peuvent intervenir avec cette méthode de purification (Martins et al., 2013). L'extraction liquide-liquide peut être utilisée comme méthode de purification avec un solvant comme l'hexane dans le cas où les pesticides sont polaires et les interférents plutôt apolaires (Das, 2014). Après une extraction SPE, Cappiello et collègues (2011) ont réalisé une purification liquide-liquide supplémentaire de la phase méthanol/eau avec du DCM afin de retirer les acides humiques et fulviques et récupérer les OCPs dans la phase organique.

2.3.2 La filtration

La filtration est une technique de purification qui opère en séparant une phase solide (les particules en suspension) d'une phase liquide. Pour cela, l'échantillon est passé à travers un filtre. Il peut s'agir d'un filtre épais qui retient les particules solides dans un réseau de fibres tels les papiers filtres ou les fibres de verre. L'autre type de filtres plus largement utilisé correspond aux filtres à membranes tels les membranes millipores. Ces filtres sont constitués d'une fine lame de plastique percée de pores très

fins allant jusqu'à 5 nm pour l'ultrafiltration. Moreno et collègues (2008) filtrent leurs échantillons sur un filtre de 0.45 µm avant l'analyse en GC-ECD. Après une extraction de sols par MAE, Saim et collègues (1997) filtrent leurs extraits sur un filtre microbore en verre.

2.3.3 La chromatographie comme étape de purification

2.3.3.1 La chromatographie sur colonne

Le principe de la chromatographie est de séparer des composés grâce à leur différence d'affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. Dans un premier temps, il faut préparer la colonne en la remplissant avec le gel qui servira de phase stationnaire. La colonne est ensuite équilibrée puis l'échantillon est déposé sur le gel. L'élution permet de récupérer les différentes fractions contenant préférentiellement les composés étudiés ou les interférents matriciels. La purification sur colonne a été utilisée dès les années 1940 afin de séparer les substances grasses de l'extrait sur de la silice acide (Trappe, 1940). Des colonnes sur alumine peuvent également être employées, mais le sorbant le plus courant est le gel de silice (Chung & Chen, 2011; Wells, 1988). Gfrerer et collègues (2005) ont utilisé le gel de silice avec du sulfate de sodium pour sécher l'extrait. Le mélange hexane/DCM (7:3) a été utilisé pour éluer les différents OCPs (DDT, PCBs, hexachlorocyclopentadiène, HCH et HCB). Utilisé pour séparer les PAHs, DDTs et HCHs des interférents de sols sur du gel de silice, l'hexane a été utilisé pour récupérer les composés hydrocarbonés aliphatiques et le DCM pour récupérer les PAHs, DDTs et HCHs (Wang et al., 2007). Le gel de silice est aussi couramment utilisé pour purifier les échantillons contenant des OCPs dans les sols ou les sédiments (Miyawaki et al., 2018). D'autres études ont combiné les sorbants, utilisant l'oxyde d'aluminium et la silice comme phase stationnaire et un mélange DCM/hexane (1:1) comme solvant d'élution (Helaleh et al., 2005).

Dès 1959, Mills a décrit une méthode de purification d'un extrait contenant des OCPs dans la nourriture avec une colonne avec de Florisil ou de Célite élués avec des éthers ou de l'éther de pétrole respectivement (Mills, 1959). Le Florisil est constitué de silicate de magnésium activé poreux (Carroll, 1961). Cependant, les OCPs peuvent être retenus durablement sur les colonnes de Florisil (Stimac, 1979). Barriada-Perreira et collègues (2003) ont combiné deux sorbants afin de garantir la bonne rétention des interférents polaires par l'alumine et ceux moins polaires par le Florisil. Les OCPs ont été élués avec un mélange hexane/acétate d'éthyle (80:20).

2.3.3.2 La chromatographie par perméation de gel

Utilisée depuis les années 1970, la chromatographie par perméation de gel (GPC), aussi appelée chromatographie d'exclusion stérique (SEC), représente une méthode de purification classique pour retirer les lipides d'une matrice (Chung & Chen, 2011). La GPC est aussi une bonne méthode pour retirer

la matière organique présente dans les sols (Das, 2014). Son principe se base sur la séparation des molécules suivant leur taille et non suivant leur affinité pour le support solide (Rimkus et al., 1996). Pour cela, cette technique utilise une colonne remplie de gel de polymère comprenant de nombreux pores qui doivent avoisiner la taille des composés étudiés. Les molécules suivant leur taille vont être plus ou moins ralenties dans la colonne. En effet, les molécules avec des poids moléculaires élevés ne pouvant pas entrer dans les pores seront éluées dans le volume interstitiel en premier tandis que les molécules de poids moléculaires plus faibles, comme les OCPs, seront éluées en second (Figure 1.20) (Chung & Chen, 2011). Les avantages de la GPC sont une bonne efficacité et une faible perte d'analyte sur la colonne (Gfrerer & Lankmayr, 2005; Miyawaki et al., 2018; Wang et al., 2007).

Navarro et collègues (2006) ont étudié l'extraction de PCBs dans des matrices animales (huîtres, poissons). La GPC, utilisée avec du DCM, a permis de retirer les graisses présentes dans ce type de matrice, comme le cholestérol, qui peuvent altérer le signal en spectrométrie de masse.

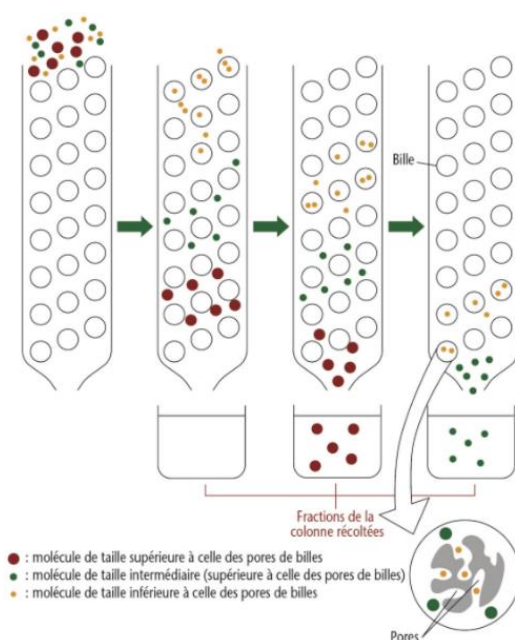


Figure 1.20. Schéma du fonctionnement de la chromatographie de perméation de gel (Tessier, 2018)

2.3.3.3 Extraction sur phase solide

La SPE est décrite comme une méthode d'extraction mais est avant tout une méthode de purification des échantillons qui utilise le même principe que l'extraction. Utilisant sur l'affinité des composés pour le support solide, la SPE ne permet pas de retirer les interférents matriciels ayant une polarité proche de celles des analytes (Das, 2014). Une perte des composés sur la cartouche due à une trop forte adsorption est également possible. Afin de purifier l'échantillon efficacement et rapidement, Silgoner et

collègues (1998) ont développé une méthode de purification SPE afin de remplacer celle en LLE fastidieuse. Pour cela, l'extrait comprenant des OCPs issus de sédiments obtenu après MAE est purifié sur une cartouche SPE C18. Les composés sont élués avec de l'acétate d'éthyle.

2.3.3.4 Micro-extraction sur phase solide

La micro-extraction sur phase solide a été décrite précédemment (§2.2.2.3.). Cette technique permet de purifier l'échantillon en adsorbant préférentiellement les polluants ciblés. Elle peut donc être utilisée comme étape de purification après extraction de l'échantillon.

2.4 Méthodes d'analyse pour les organochlorés

2.4.1 Chromatographie en phase gazeuse

Le principe de la chromatographie en phase gazeuse (GC) a été décrit pour la première fois en 1954 par James et Martin afin de séparer des composés volatils grâce à du diazote (N_2). La GC fonctionne selon le principe de la partition des composés entre une phase mobile (un gaz inerte compressible) et une phase stationnaire contenue dans une colonne (James & Martin, 1952). Les appareils se sont rapidement développés et la GC a connu un réel essor dès les années 1960. Pour cela, l'échantillon, préalablement extrait, est inséré dans l'injecteur au moyen d'une seringue dont l'aiguille perce le septum qui assure l'étanchéité du système (Figure 1.21). L'extrait est immédiatement volatilisé grâce à la haute température de l'injecteur.

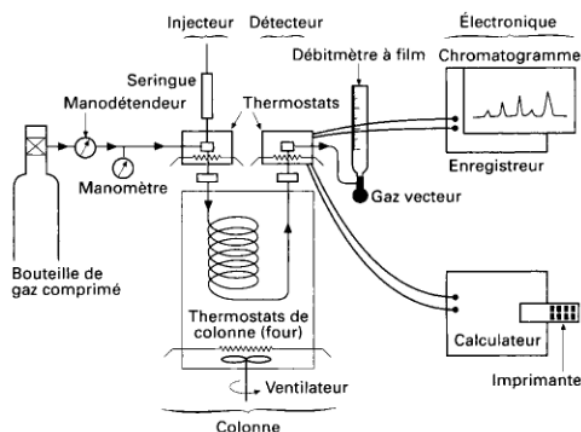


Figure 1.21. Schéma d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse (Tranchant, 1996)

La GC est une technique de choix pour l'analyse des OCPs car ce sont des molécules généralement peu polaires et assez volatiles. Le gaz vecteur (hélium, diazote, dihydrogène) entraîne l'extrait vaporisé dans la colonne. Les premières colonnes étaient remplies avec un support solide recouvert de liquide stationnaire. Les colonnes capillaires recouvertes d'une fine couche de phase stationnaire liquide ont été introduites en 1956 (James & Martin, 1956) et sont aujourd'hui les plus couramment utilisées

(Bartle & Myers, 2002). Suivant leur affinité sur la colonne et leur volatilité, les composés, entraînés par le gaz vecteur, vont se déplacer avec des vitesses différentes dans la colonne. Afin de maîtriser l'élution des composés, la colonne est placée dans une enceinte thermocontrôlée. Ce four peut être utilisé selon deux modes : i) le mode isotherme pour lequel une seule température est utilisée tout au long de l'analyse ou ii) le mode gradient, qui permet des montées en température progressives afin d'optimiser la bonne séparation des composés. Un détecteur est relié à la sortie de la colonne. La GC présente de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes de chromatographie antérieures comme la distillation. En effet, c'est une méthode rapide, sensible, qui utilise de très petits volumes de l'ordre du microlitre (McNair et al., 2019).

2.4.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons

La GC peut être couplée avec différents détecteurs afin de quantifier et d'identifier les composés présents dans le milieu. Nous nous limiterons ici aux détecteurs les plus adaptés aux OC. Le détecteur à capture d'électrons (ECD) a été décrit pour la première fois en 1958 (Lovelock, 1958). Ce détecteur utilise une source radioactive et des dispositions particulières doivent être prises lors de sa manipulation. Un dispositif ECD utilise une cellule comprenant des isotopes radioactifs, souvent le nickel 63 ou le tritium (^3H), afin de générer des particules β qui entrent en collision avec le gaz masquant, générant de nombreux électrons libres sous forme de nuage (Pellizzari, 1974). Les électrons sont ensuite accélérés vers l'anode par pulsation où se trouvent les analytes à la sortie de la colonne (Aue & Kapila, 1973). Les composés électronégatifs vont immédiatement capturer un électron. Le nombre d'électrons constituant le nuage électronique qui varie au cours de l'analyse est compensé instantanément par le débit de pulsation afin de garder un nombre constant d'électrons libres. Le principe du détecteur ECD est de mesurer le débit de pulsation afin de garder un courant électronique stable.

Les avantages de ce détecteur sont sa grande spécificité pour les composés électronégatifs et son excellente sensibilité. Ainsi, l'ECD est un détecteur de choix pour les composés halogénés tels que les OCPs, électronégatifs, qui vont facilement capturer un électron pour remplir leur couche électronique de valence. Les limites de détections atteintes pour ces composés peuvent être du picogramme au femtogramme (Bartle & Myers, 2002). Ainsi, de nombreuses études ciblant des OCPs et des PCBs utilisent le détecteur ECD (Dong et al., 2005; Doong & Liao, 2001; Kumar et al., 2011; Leyva-Morales et al., 2015; Lu & Liu, 2016; Van der Velde et al., 1992). Des limites de détection de la méthode peuvent être comprises entre de 1.6 et 2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ pour les OCPs (HCH, DDT et dérivés de l'hexachlorocyclopentadiène) (Leyva-Morales et al., 2015). Moreno et collègues (2008) ont, quant à eux, obtenu des LODs variant de

0.3 ng.kg⁻¹ à 200 ng.kg⁻¹. Lu et collègues (2016) ont déterminés des LODs instrumentales comprises entre 0.01 ng.g⁻¹ et 40 ng.kg⁻¹ pour dix OCPs (HCH et DDT) et PCBs.

Aucune information structurale particulière (hormis la présence d'éléments électronégatifs) n'est apportée par le détecteur ECD. De nos jours, le spectromètre de masse, qui apporte des éléments d'identification supplémentaires, est devenu le détecteur le plus utilisé, surtout lorsque l'on travaille en analyse multi-résidus.

2.4.3 Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le principe de la spectrométrie de masse (MS) a été découvert en 1898 par Wien voyant que les particules cathodiques chargées négativement pouvaient être déviées lorsqu'elles traversaient un champ électrique et un champ magnétique positionnés parallèlement (Wien, 1898). Cependant, ce n'est qu'en 1943, avec le premier appareil de MS commercialement disponible, que cette technique de détection connaîtra un essor. En 1960, le couplage entre la chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse (GC-MS) devient effectif. Ce couplage est très puissant puisqu'il combine le pouvoir de séparation de la GC et le pouvoir d'identification et de quantification de la MS (Karasek & Clement, 2012).

Le spectromètre de masse est composé de trois parties : la source d'ionisation, l'analyseur et le détecteur. Après leur séparation dans la colonne chromatographique, les molécules sont transférées dans la source d'ionisation où elles sont diluées dans une phase gazeuse en présence d'un vide (10⁻⁴ Pa). En GC-MS, il existe deux sources d'ionisation : l'impact électronique (EI) et l'ionisation chimique (IC). En EI, un filament chauffé va générer des électrons, qui, une fois accélérés grâce à une énergie d'ionisation (généralement de 70 eV), vont être bombardés, via un faisceau orienté par un champ magnétique, sur les molécules (Figure 1.22) (Gross, 2006). L'énergie d'ionisation correspond à l'énergie minimale qu'il faut à une molécule pour qu'une fois absorbée dans ses couches électroniques et vibrationnelles, un électron lui soit arraché. Ainsi, un radical cationique M^{•+} est formé. Ces ions sont alors caractérisés par leur ratio masse sur charge (m/z) correspondant à la masse moléculaire sur la charge de l'ion (Gross, 2006). L'énergie d'ionisation étant importante, des collisions peuvent avoir lieu entraînant une fragmentation des molécules en ions de plus faibles poids moléculaires. Chaque molécule possède une fragmentation caractéristique pouvant être considérée comme son empreinte. L'utilisation d'une énergie d'ionisation standard de 70 eV permet d'avoir des bibliothèques universelles de spectres de masse de référence, telles que NIST (*National Institute of Standards and Technology*) (Arpino, 2007; Heller, 1999).

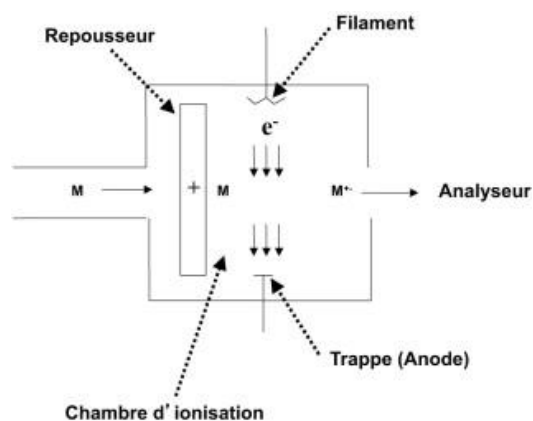


Figure 1.22. Schéma de l'ionisation par impact électronique (EI) (Menet, 2011)

L'IC a été introduite en 1966, par Munson et Field pour éviter la perte de l'ion moléculaire souvent fragmenté en EI. Pour cela, un gaz réactif, par exemple le méthane, est inséré dans la source d'ionisation. Les électrons formés, comme dans une source à impact électronique, vont entrer en collision avec le méthane, formant des espèces chargées telles le CH_4^+ et le CH_3^+ . Ces ions vont alors réagir avec les analytes présents dans le milieu afin de former des ions $[\text{MH}]^+$ (Figure 1.23) (Munson & Field, 1966). Cette ionisation plus douce est complémentaire de l'EI. D'autres gaz (NH_3) peuvent être utilisés, pour favoriser notamment la formation d'adduits chargés négativement.

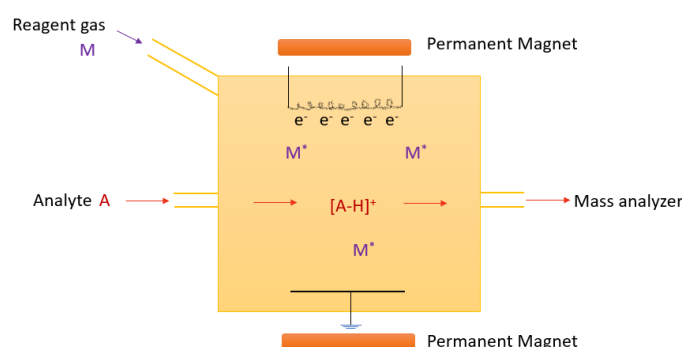


Figure 1.23. Schéma d'une ionisation chimique (IC) (« Chemical Ionization », 2023)

Une fois générés, les ions sont transférés dans l'analyseur via un champ électrique où les ions vont être triés suivant leur rapport m/z (Herbert & Johnstone, 2002). Il existe plusieurs analyseurs opérant différemment sur le principe de mesure du m/z : la séparation par temps de vol (TOF), le mouvement périodique (piège à ions) ou grâce à un champ magnétique (quadripôle). L'analyseur quadripolaire est le plus couramment utilisé. Il est constitué de quatre barreaux métalliques parallèles dont deux possèdent une tension continue U tandis que les deux autres possèdent une tension alternative V . La trajectoire de l'ion doit être stable et rectiligne suivant les paramètres de réglages de l'analyseur, afin d'atteindre le détecteur (Figure 1.24). Les pièges à ions confinent les ions grâce à un champ électrique radiofréquence et à un potentiel continu. Les ions sont éjectés de la trappe suivant le champ radiofréquence imposé, ce qui permet de les différencier selon leur m/z (Botter & Bouchoux, 1995). En mode

SIM (*single ion monitoring*), les valeurs de U et de V sont fixées afin de ne sélectionner que les ions étudiés (Menet, 2011). Le spectromètre à temps de vol (TOF), développé en 1955, utilise le principe suivant lequel la vitesse d'un ion est inversement proportionnelle à la racine carrée de sa masse. Ainsi, les ions sont accélérés et traversent un tube sans champ dans lequel les ions avec un faible m/z seront détectés en premier.

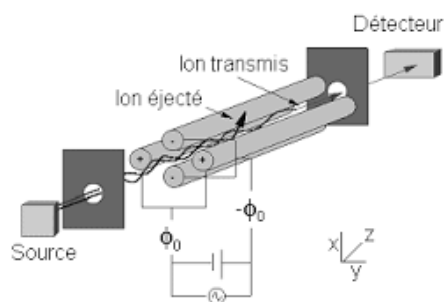


Figure 1.24. Schéma d'un analyseur de spectrométrie de masse (Rondeau, 2017)

Afin d'être plus sélectif dans des milieux complexes, la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) a été développée. La GC-MS/MS (Figure 1.25) est une technique qui permet de diminuer les effets matrices, d'augmenter la sélectivité et les limites de détection (Chung & Chen, 2011). Pour cela, les ions sont dans un premier temps sélectionnés dans un premier analyseur. Ils passent ensuite dans une cellule de collision qui est constituée d'un quadripôle où seule la tension alternative V est appliquée (Menet, 2011). En présence d'un gaz de collision et sous pression, les ions parents sont fragmentés en ions fils et passent dans un second analyseur afin de sélectionner les ions fils (De Hoffmann & Stroobant, 2007). En mode MRM (*multiple reaction monitoring*), l'ion parent est sélectionné ainsi que son ion fils dans le troisième quadripôle, correspondant à la transition suivie $m/z_{\text{ion parent}} \rightarrow m/z_{\text{ion fils}}$. Ce mode permet d'augmenter la sélectivité de la méthode et de limiter le bruit de fond en ne détectant pas les interférents matriciels ne répondant pas à cette transition (Menet, 2011). Cependant, l'analyse en MS/MS, par l'utilisation de transitions, exclut la possibilité de détecter d'autres composés initialement non-recherchés (analyse non-ciblée).

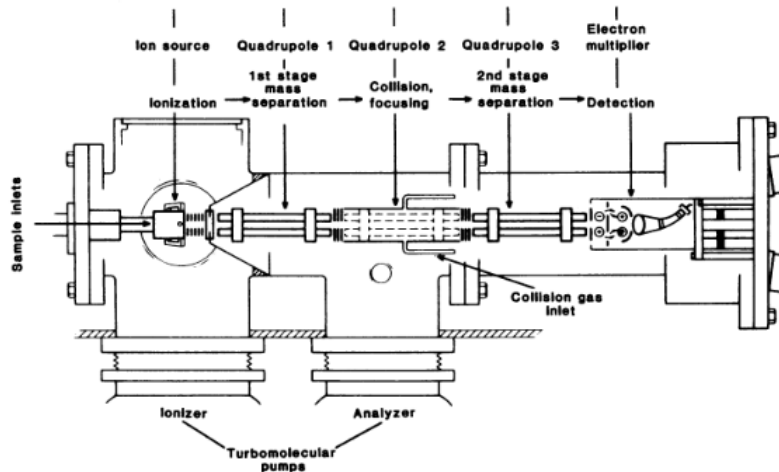


Figure 1.25. Schéma d'un montage de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) (McLafferty, 1981)

Enfin, les ions arrivent au détecteur où ils seront comptés afin de connaître l'intensité de chaque ion dans l'échantillon. Le plus couramment utilisé dans les systèmes GC-MS est le multiplicateur d'électrons. Les ions arrivent dans le détecteur et entrent en collision avec une surface métallique. Des électrons secondaires sont alors émis et sont ensuite multipliés par collision avec des dynodes pour amplifier le signal. Il existe aussi un multiplicateur de photons qui consiste à accélérer les électrons secondaires vers un écran phosphorescent afin de les convertir en photons. Le signal électrique est ensuite converti grâce à un électro- ou un photo- multiplicateur afin d'obtenir un spectre de masse (Arpino, 2007).

De nombreuses études relatent l'utilisation de la spectrométrie de masse lors d'analyses multi-résidus. Merdassa et collègues (2015) ont développé une méthode MAE-GC-MS pour l'analyse d'OCPs dans les sédiments. Les LODs obtenues sont comprises entre 1 et 2.2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. En 2019, Jabali et collègues ont développé une méthode SPME-GC-MS/MS pour extraire 48 pesticides dont 16 OCPs (HCH, DDT, hexachlorocyclopentadiène et HCB) dans l'eau de rivière. Des LODs comprises entre 0.001 à 0.458 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ont été atteintes. La méthode développée permet d'avoir une bonne linéarité, une bonne précision et une très haute sensibilité pour les composés étudiés (Jabali et al., 2019). Miyawaki et collègues (2018) ont étudié les OCPs et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAHs) dans le sol. Des LODs inférieures à 0.8 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ont été obtenues par analyse GC-MS à la suite d'une extraction MAE. Gfrerer et collègues (2005) ont développé une méthode d'analyse par MAE-GC-MS en mode SIM pour l'analyse d'OCPs (HCH, HCB, PCB, DDT et hexachlorocyclopentadiène) dans les sédiments. Cette méthode a permis de quantifier les OCPs à des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

2.4.4 Chromatographie en phase liquide

Les OCPs sont des molécules apolaires ou moyennement polaires facilement analysables en GC. Ainsi, la majorité des études sur les OCPs ont été développées en GC-MS ou en GC-ECD. Pour autant, des analyses de la CLD et de ses dérivés ont été réalisées avec succès en LC-MS.

La théorie de la chromatographie liquide (LC) a été décrite en 1941 (Martin & Synge, 1941). Elle représente une méthode d'analyse complémentaire de la GC, pour l'analyse des composés peu volatils, polaires ou thermolabiles. Son principe utilise les différences de distribution du composé entre une phase liquide appelée phase mobile dans lequel il est dissous et une phase stationnaire, représentée par une colonne analytique, sur laquelle il pourra s'adsorber (Caude & Jardy, 1994). L'échantillon mélangé avec la phase mobile est entraîné vers la colonne contenant la phase stationnaire. Les différentes molécules présentes dans le milieu ne vont pas avoir la même affinité pour la colonne ce qui va conduire à des différences de temps de rétention. En effet, les composés sont élués le long de la colonne selon le débit mais aussi selon la composition de la phase mobile. On peut travailler en mode isocratique, en maintenant la composition de la phase mobile constante, ou bien en mode gradient en variant la nature de la phase mobile. Cela permet de séparer des composés et de moduler le temps d'analyse. Différents critères peuvent être utilisés, notamment la polarité de l'éluant, son pH ou sa force ionique.

Des développements importants ont eu lieu sur les phases stationnaires utilisées en LC. Il existe aujourd'hui différents types de colonnes permettant de s'adapter à chaque type de molécules. La LC en phase inverse (RPLC pour *reversed phase liquid chromatography*) est la méthode de séparation la plus couramment utilisée avec notamment les colonnes composées de C18. L'arrivée de la LC à ultra haute performance (UHPLC) avec l'utilisation de colonnes remplies de particules inférieures à 2 μm a permis d'atteindre des pressions supérieures à 400 bars et ainsi de faire diminuer les temps d'analyse, tout en augmentant la résolution (Veuthey, 2020).

2.4.5 Chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse

Le couplage entre la LC et un spectromètre de masse (MS) est une technique d'analyse de choix pour l'analyse de composés polaires. Les premiers couplages LC-MS réalisés en 1970 étaient difficiles à mettre en œuvre car le principe de la source d'ionisation en GC-MS a été simplement translaté au couplage LC-MS (Arpino, 2007). Ainsi, le vide présent dans la source d'ionisation n'était pas compatible avec la colonne analytique LC. Des sources d'ionisation « douces » à pression atmosphérique (API) se sont développées en 1973 (Horning et al., 1973). Il existe trois principales sources API : l'ionisation par électro-nébulisation (ESI), la photoionisation à pression atmosphérique (APPI) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI).

La source APCI a été développée en 1975 par Carroll et collègues (1975). Une source APCI (Figure 1.26) est composée d'un nébuliseur qui va vaporiser l'effluent de la colonne analytique grâce à des températures supérieures à 300 °C. L'aérosol formé se mélange avec le gaz nébuliseur. Une décharge corona à haute tension (> 2 kV) qui va produire les électrons de haute énergie, ionise entièrement la source créant un plasma (Rondeau, 2017). Le gaz nébuliseur ionisé, va alors réagir avec les molécules neutres pour créer des ions.

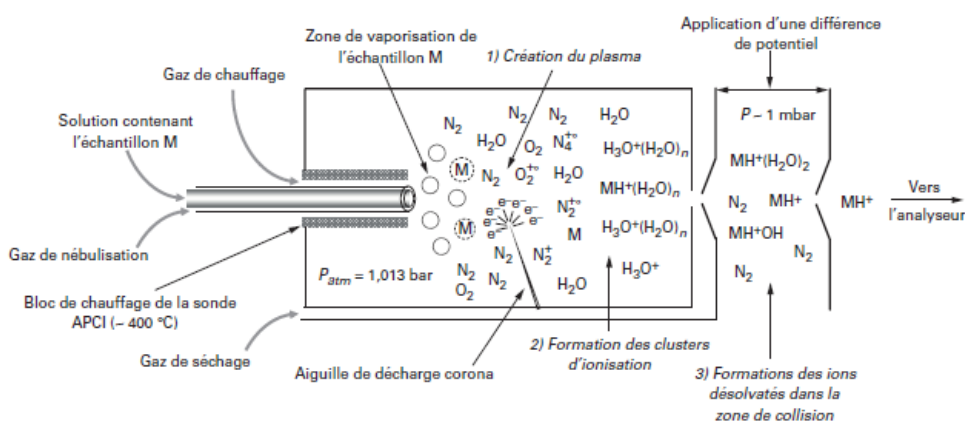


Figure 1.26. Schéma d'une source APCI (Rondeau, 2007)

Le principe de la photoionisation sera développé comme source d'ionisation en spectrométrie de masse au début des années 1980 (Driscoll et al., 1984). La source APPI (Figure 1.27) reprend le même principe que l'APCI mais les électrons sont remplacés par des photons générés par une lampe à décharge sous vide (Rondeau, 2017). Ainsi, le photon, d'énergie $h\nu$, va exciter une molécule et lui céder toute son énergie. La molécule va ensuite se désexciter en éjectant un électron créant un cation radical $M^{+\bullet}$ et un électron libre : c'est la photoionisation. Cette technique permet d'ioniser facilement les composés apolaires lors d'une analyse en LC (Hanold et al., 2004). Il faut noter que les composés aromatiques et halogénés sont particulièrement sensible à l'APPI. La source APPI est moins sensibles aux effets matrice que l'ESI et l'APCI (Arpino, 2009).

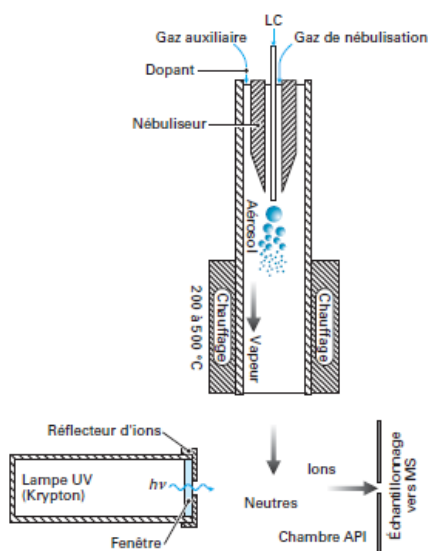


Figure 1.27. Schéma d'une source APPI (Rondeau, 2017)

La source d'ionisation par électronébuliseur (*Electrospray Ionization*) (Figure 1.28) a été utilisée en spectrométrie de masse pour la première fois en 1968 (Dole et al., 2003). L'effluent de la colonne entre dans un capillaire avec en sortie, une aiguille sous haut potentiel. Le champ électrique va créer des fines gouttelettes chargées qui vont être attirées vers l'interface à l'aide d'une contre-électrode (Monégier, 1997). Les gouttelettes vont se désolvater grâce à un flux d'azote chaud jusqu'à atteindre la limite de Rayleigh. Les répulsions électrostatiques étant trop importantes, les gouttelettes subissent une explosion coulombienne (Gaskell, 1997). Les ions désolvatés, $[M+H]^+$ en mode positif ou $[M-H]^-$ en mode négatif, sont ensuite sélectionnés grâce à plusieurs lentilles et dirigés dans l'analyseur. L'ESI représente la technique d'ionisation la plus douce avec une majorité d'ions moléculaires présents.

Il existe d'autres sources d'ionisation comme la désorption/ionisation par électronébulisation (DESI) ou l'analyse direct en temps réel (DART) qui permettent d'ioniser directement les composés contenus dans la matrice avec peu de préparation d'échantillon au préalable. Des études par couplages LC-DART-MS, LC-MALDI-MS et LC-DESI-MS ont été décrites mais ne sont que très peu utilisées (Eberherr et al., 2010; Hölttä et al., 2012; Y. Zhang et al., 2011).

Les analyseurs et les détecteurs pour les couplages LC-MS sont les mêmes que pour les couplages GC-MS. La spectrométrie à haute résolution (HRMS) permet aujourd'hui l'analyse de nouvelles molécules non-ciblées grâce à sa grande sensibilité et sa grande résolution.

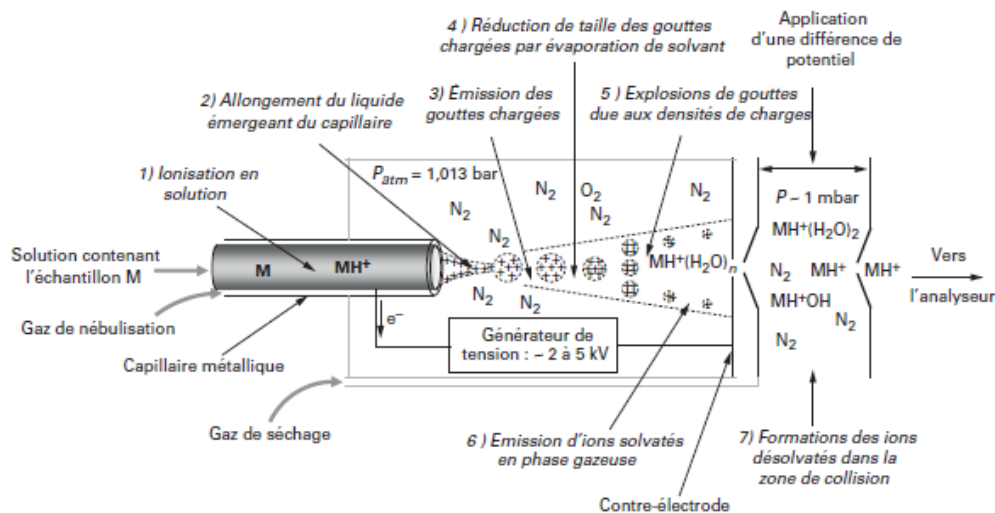


Figure 1.28. Schéma d'une source ESI (Rondeau, 2017)

3. Méthodes analytiques pour le dosage de la chlordécone et de ses dérivés

La CLD est une molécule possédant une structure particulière en forme de cage correspondant à un polycycle bishomocubane pourvue de dix atomes de chlore et d'une fonction diol géminal. Cette structure lui confère une polarité et une volatilité faible. Plusieurs protocoles d'extraction ont été mis au point en fonction du type de matrice étudiée, certains incluant le CLDOH et/ou la 8-monohydroCLD, leur étalon étant commercialement disponible. Différentes méthodes analytiques ont été utilisées comme la GC-MS ou la GC-ECD, technique analytique de choix pour les OCPs. De nos jours, les analyses sont plus couramment réalisées en LC-MS, méthode permettant d'obtenir des limites de détection plus basses. Le choix de l'étalon interne, servant à corriger les déviations analytiques pouvant apparaître lors de l'extraction et/ou de l'analyse, est critique afin d'avoir une quantification fiable et reproductible.

3.1 Analyse des matrices liquides

3.1.1 Méthode d'analyse pour les matrices biologiques

3.1.1.1 Dans le sang

Lors de la contamination aigüe des ouvriers de l'usine de production de la CLD à Hopewell (Etats-Unis), des échantillons biologiques ont été prélevés afin de déterminer la toxicité et la pharmacocinétique de la CLD chez l'Homme. Une première étude a été réalisée sur le sang des ouvriers contaminés (Blanke et al., 1977). Pour cela, une extraction liquide-liquide a été développée à partir d'un échantillon de sang préalablement acidifié avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) afin de dénaturer les protéines (Blanke et al., 1977), ce qui a pour avantage de limiter l'extraction parallèle d'interférents matriciels (Caplan et

al., 1979; Griffith & Blanke, 1974). La triéthylamine et l'acide formique permettent également la dénaturation des protéines contenues dans le sang (Fourcot et al., 2020; Saint-Hilaire et al., 2020). L'échantillon est extrait par LLE trois fois successivement avec un mélange hexane/acétone (85:15) (Blanke et al., 1977; Cohn et al., 1978). L'extrait, évaporé, est repris dans le benzène/MeOH (99:1) (Blanke et al., 1977). Une étude du meilleur solvant d'injection en GC-ECD a conduit au classement suivant : isoctane = hexane < benzène < benzène/MeOH/cyclohexane (95:1:4) < benzène/MeOH (99:1) (Blanke et al., 1977). Ainsi, Blanke et collègues (1977) obtiennent des rendements d'extraction supérieurs à 95 % pour le sang et le plasma.

Dans un autre protocole, l'échantillon de sang est extrait avec du benzène après acidification de l'échantillon (Adir et al., 1978; Caplan et al., 1979). Un lavage de la phase organique avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) est ensuite réalisé. La phase aqueuse est alors acidifiée avec du H₂SO₄ puis extraite avec du benzène, qui est le solvant d'injection. Des rendements d'extraction supérieurs à 80 % sont obtenus si une triple extraction au benzène est réalisée (24.7 % dans le sang et 43.2 % dans le sérum avec une seule étape d'extraction) (Caplan et al., 1979) tandis que Adir et collègues (1978) obtiennent un rendement d'extraction de 54 % dans le sérum avec une seule extraction LLE au benzène. Ces deux études ont été réalisées en GC-ECD. Le mirex a également été quantifié dans le sang (Burse et al., 1989). L'échantillon, préalablement mélangé avec du méthanol pour dénaturer les protéines, est extrait trois fois successivement par LLE avec un mélange hexane/éther diéthylique suivi d'une centrifugation puis d'une purification sur une colonne de Florisil et analysé par GC-ECD et GC-MS. Des rendements moyens de 95 % ont été obtenus.

Plus récemment, des protocoles d'extraction de la CLD dans le sérum par extraction sur phase solide ont été décrits dans des études de toxicocinétique de la CLD chez plusieurs animaux d'élevage (Bichon et al., 2015; Fourcot et al., 2020; Saint-Hilaire et al., 2020). Pour cela, l'échantillon est déposé sur une cartouche SPE de C18. La CLD est éluée avec de l'ACN (Bichon et al., 2015) ou un mélange hexane/éther diéthylique (85:15) (Saint-Hilaire et al., 2020) ou hexane/éther diéthylique/ACN/éthanol (80:15:4:1) (Fourcot et al., 2020). Les deux dernières méthodes présentent des limites de détection identiques (0.02 µg.L⁻¹) l'une en GC-ECD (Saint-Hilaire et al., 2020) et l'autre en GC-MS (Fourcot et al., 2020). L'hexane pur est trop apolaire pour éluer la CLD sur une cartouche de SPE C18 (Bichon et al., 2015). C'est pourquoi, d'autres solvant plus polaires, ou alors des mélanges de solvants, sont utilisés. Dans les études les plus récentes, l'acidification a lieu avec de l'acide formique afin d'éviter une éventuelle dégradation de la CLD pouvant arriver avec H₂SO₄ (Bichon et al., 2015).

Saint-Hilaire et collègues (2021) ont développé un protocole analytique avec la méthode d'extraction QuEChERS pour l'analyse de la CLD et du CLDOH dans le sang de brebis, après une administration intraveineuse de CLD. Après déconjugaison, le sang est extrait avec 10 ml d'ACN en présence de

sels (NaCl et MgSO₄). La CLD et le CLDOH-conjugué (obtenu par différence entre le CLDOH-total (CLDOH + CLDOH-C déconjugué) et le CLDOH) ont été détectés dans le sérum. Cette étude est la seule permettant la détection du CLDOH, ici, correspondant au CLDOH-C déconjugué, dans le sang.

Une nouvelle méthode d'extraction, utilisant des polymères à empreinte moléculaire (MIP) a été développée. Préalablement extrait avec de l'ACN, le sérum est ensuite percolé sur la cartouche de MIP. La CLD est alors éluée avec du méthanol et analysée en LC-MS/MS. Une comparaison avec une extraction sur une cartouche C18 a montré des rendements d'extraction non significativement différents ($87 \pm 6 \%$ contre $76 \pm 10 \%$ pour le MIP et la C18, respectivement) mais ce nouveau matériau a permis d'abaisser les LOQs d'un facteur 4 passant de 17.5 à 4.4 ng.L⁻¹ entre la C18 et le MIP (Bosman et al., 2021).

Les méthodes utilisant la GC-ECD ou la GC-MS utilisent des étalons internes ayant une structure monohydroCLD (Fourcot et al., 2020, 2021; Saint-Hilaire et al., 2020), qui, de fait, ne peuvent être quantifiés par ces méthodes. En outre, il faut s'assurer que ces molécules ne sont pas présentes initialement dans l'échantillon. Le Tableau 1.2 ci-dessous récapitule les protocoles décrits pour l'analyse de la CLD et du mirex dans le sang.

Tableau 1.2. Récapitulatif des méthodes d'extraction de la chlordécone dans le sang

Références	Blanke et al., 1977	Caplan et al., 1979	Burse et al., 1989	Bichon et al., 2015
Composés	CLD	CLD	Mirex	CLD
Préparation de l'échantillon	H ₂ SO ₄	H ₂ SO ₄	Centrifugation et dénaturation (MeOH)	Acide formique + hydrolyse
Volume	1 à 2 ml	1 ml	-	0.5 à 1 ml
Extraction	LLE	Partition	LLE	SPE
Protocole	Acétone/hexane (15 :85) (3x)	Benzène, centrifugation, extraction (NaOH (1M)) puis benzène, NaOH extrait avec H ₂ SO ₄ + benzène	Hexane/éther diéthylique (x3)	Conditionnement (ACN + eau), lavage (eau), séchage, élution 1 (hexane), séchage, élution 2 (ACN)
Purification	-	-	Florisil + Gel de silice	SPE
Analyse	GC-ECD	GC-ECD	GC-MS	LC-MS
Solvant d'injection	Benzène/MeOH (99:1)	Benzène	-	ACN
Etalon interne	-	Dieldrine	-	³ C ₁₂ -PCB-111
Rendement	> 95 %	80 % (x3 extractions)	92-98 %	100-114 %
LOD	5 µg.L ⁻¹	10 µg.L ⁻¹	0.5 µg.L ⁻¹	-
LOQ	-	-	-	0.025 µg.L ⁻¹
Incertitude	2 %	-	-	< 20 %

Tableau 1.2. Suite et fin

Références	Fournier et al., 2017	Fourcot et al., 2021	Saint-Hilaire et al., 2021
Composés	CLD	CLD	CLD et CLDOH
Préparation de l'échantillon	Dénaturation des protéines	Dénaturation des protéines	Déconjugaison
Volume	2 ml	2 ml	2 ml
Extraction	SPE	SPE	QuEChERS
Protocole	Lavage (eau), séchage et élution (éther diéthylique/hexane (15:85))	Hexane/éther diéthylique/ACN/éthanol (80:15:4:1)	ACN + sels (NaCl et MgSO ₄)
Purification	-	-	d-SPE
Analyse	GC-ECD	GC-MS	LC-MS/MS
Solvant d'injection	Hexane	Hexane	-
Etalon interne	8-monohydroCLD	10-monohydroCLD	-
Rendement	-	-	-
LOD	-	0.02 µg.L ⁻¹	-
LOQ	0.06 µg.L ⁻¹	0.06 µg.L ⁻¹	-
Incertitude	6.5 %	-	-

3.1.1.2 Dans les urines

Afin d'étudier le devenir de la CLD et ses dérivés dans les urines, les premiers développements de méthodes d'extraction ont eu lieu en LLE, méthode de choix dans les années 1970. Des études sur l'analyse du mirex dans les urines ont été réalisées antérieurement à celles pour la CLD. Mehendale et collègues (1972) se sont intéressés au devenir du ^{14}C -mirex chez le rat. Les urines ont été extraites avec un mélange hexane/isopropanol (3:2) puis analysées par chromatographie sur couche mince et par radiographie. Pour la CLD, Blanke et collègues (1977) ont appliqué la méthode précédemment développée pour le sang à la matrice urine avec des extractions à l'hexane/acétone (85:15). Cette méthode sera ensuite reprise par Cohn et collègues (1978).

Récemment, Saint-Hilaire, Bertin et collègues (2018) se sont intéressés au devenir de la CLD dans les urines de brebis. Une méthode d'extraction de type QuEChERS a été développée pour l'extraction de la CLD et du CLDOH, métabolite de la CLD produit chez la brebis. Les urines ont d'abord été déconjuguées afin que les formes glucuronées et sulfatées soient converties en CLD et en CLDOH. Les urines sont alors extraites en présence d'ACN et de sels QuEChERS (NaCl et MgSO_4). Contrairement à la méthode traditionnelle, l'étape de purification par d-SPE a été remplacée par une simple filtration. Avec la méthode QuEChERS, les rendements sont compris entre 70 et 120 % pour la CLD et le CLDOH

3.1.2 Méthode d'analyse pour l'eau

La méthode la plus couramment utilisée pour extraire de l'eau est l'extraction liquide-liquide. Les premières études ont utilisé du benzène (Moseman et al., 1977) ou un mélange hexane/éther diéthylique (Saleh & Lee, 1978). Plus récemment, le chloroforme (He et al., 2015) ou bien un mélange DCM/acétate d'éthyle ont été utilisés par le LDA26 (Mottes et al., 2020; Rochette et al., 2020). La LLE permet d'atteindre des limites de détection de 20 ng.L^{-1} (Saleh & Lee, 1978) en GC-ECD et jusqu'à 3.3 ng.L^{-1} en HPLC-MS/MS (Mottes et al., 2020). Les rendements d'extraction en LLE sont très satisfaisants et compris entre 70 % (He et al., 2015) et 109 % (Saleh & Lee, 1978) pour la CLD et entre 74 % et 90 % (He et al., 2015) pour le CLDOH. Une seconde étude a recherché la CLD ainsi que ses produits de transformation, tels que le CLDOH et la 8-monohydroCLD, dans les eaux usées (Devault et al., 2018). Après acidification, les eaux usées sont extraites par LLE avec un mélange hexane/acétone (85:15). Des LODs de 100 ng.L^{-1} ont été obtenus en GC-MS/MS et aucun composé n'a été détecté dans les eaux usées analysées. Chevallier et collègues (2019) ont développé un protocole d'extraction LLE de la CLD ainsi que des différents produits de transformation (familles A, B, C, D et E) dans de l'eau de rivière et de mangrove. Pour cela, l'échantillon, préalablement acidifié, est extrait douze fois successivement avec du DCM. Bien que la LLE soit

efficace, il s'agit néanmoins d'une méthode chronophage qui utilise souvent de large volume d'échantillon (Chevallier et al., 2019; Devault et al., 2018; Mottes et al., 2020; Rochette et al., 2020; Saleh & Lee, 1978) avec des solvants souvent toxiques.

De nouveaux protocoles plus verts et moins chronophages ont alors été développés. En LC, l'analyse directe d'eau étant possible, une méthode d'injection directe a été développée et a permis d'atteindre des LOQs de 1.5 ng.L^{-1} (Dromard, Allenou, et al., 2022). Cimetiere et collègues (2014) ont analysé l'eau de surface et les eaux usées en filtrant préalablement les échantillons sur une membrane et en éluant la CLD avec un mélange ACN/eau (50:50). Suivies d'une analyse LC-MS/MS, des LOQs de 1500 ng.L^{-1} ont été obtenues. L'échantillonnage des eaux se fait essentiellement via un prélèvement ponctuel. Cette méthode permet seulement de doser les composés d'intérêt à l'instant T, sans prendre en compte les possibles fluctuations de concentration en CLD sur différents jours. Les échantillonneurs passifs de type POCIS (*Polar Organic Chemical Integrative Sampler*) sont des cartouches de sorbant positionnées pendant un temps définis dans le milieu à analyser, permettant d'obtenir la concentration moyenne de ce milieu durant cette période. Ainsi, Dromard et collègues (2022) ont développé un protocole d'extraction d'une cartouche POCIS contenant de l'OASIS HLB, sorbant en phase inverse permettant l'extraction d'une large gamme de composés. Une fois récupéré, le sorbant est déposé dans une cartouche de SPE vide et la CLD, adsorbée sur le sorbant, est élue à la suite de trois éluations constituées de MeOH pur puis de MeOH/DCM (50:50) et de DCM pur. Des LOQs de 0.01 ng.L^{-1} (concentration extrapolée dans l'eau) en LC-MS/MS ont été obtenues. Ainsi, cette technique d'échantillonnage passif permet d'atteindre des LOQs très faibles grâce à la concentration de la CLD sur le sorbant durant la période d'échantillonnage, permettant de détecter des traces de CLD dans l'eau.

Une nouvelle méthode d'extraction automatique a été décrite pour l'analyse de la CLD dans l'eau par SPME (Soler et al., 2014). L'échantillon d'eau a directement été mis en contact avec la fibre SPME en polydiméthylsiloxane/divinylbenzène (PDMS-DVB) durant 10 minutes à $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Cette technique présente comme avantages sa simplicité, sa rapidité ainsi que la non-utilisation de solvant. Des limites de détection de 0.5 ng.L^{-1} ont été atteintes en GC-MS/MS (Soler et al., 2014), défiant ainsi les autres techniques utilisées, même celle en LC-MS/MS, connue pour être une méthode intrinsèquement plus sensible que la GC-MS/MS pour la CLD.

Les différentes méthodes sont répertoriées dans le Tableau 1.3, ci-dessous.

Tableau 1.3. Récapitulatif des méthodes d'extraction de la CLD dans l'eau.

Référence	Moseman et al., 1977	Saleh et al., 1978	He et al., 2014	Soler et al., 2014	Cimetière et al., 2014
Matrice	Eau de rivière	Eau souterraine de surface	Eau de ruisseau	Eau	Eau de surface et de les eaux usées
Volume	50 ml	3 000 mL	100 ml		
Composés	CLD	CLD	CLD et CLDOH	CLD	CLD
Extraction	LLE	LLE	LLE	SPME (PDM-DVB)	Filtration sur membrane
Protocole	Benzène Séchage Na ₂ SO ₄	Éther diéthylique/hexane (35:65) (x2)	Chloroforme Séchage Na ₂ SO ₄	10 min à 80 °C et désorption 5 min à 270 °C	Elution avec ACN : Eau
Purification	-	Florisil	Filtration	-	-
Solvant injection	Benzène/MeOH (99:1)	10 % MeOH Hexane/benzène (95:5)	ACN		ACN :Eau
Analyse	GC-ECD	GC-ECD	HPLC-MS	GC-MS et GC-MS/MS	LC-MS/MS
Etalon interne	-	-	Métoxychlore	-	-
Rendement	90-92 %	99-109 %	CLD : 70-87 % CLDOH : 74-90 %	-	100 %
LOD	40 ng.L ⁻¹	20 ng.L ⁻¹	2 000 ng.L ⁻¹	MS : 35 ng.L ⁻¹ MS/MS : 0.5 ng.L ⁻¹	800-1 500 ng.L ⁻¹
LOQ	-	-	30 000 ng.L ⁻¹	MS : 80 ng.L ⁻¹ MS/MS : 2 ng.L ⁻¹	1 900 ng.L ⁻¹
Incertitude	-	-	-	4 %	-

Tableau 1.3. Suite et fin.

Référence	Devault et al., 2018	Chevallier et al., 2019		Rochette et al., 2020	Mottes et al., 2020	Dromard et al., 2022	
Matrice	Eaux usées	Eau de rivière et de mangrove		Eau des bassins versants	Eau de rivière	Eaux de rivière et marine	
Volume	500 ml	750 ml		1 000 mL	1 000 mL	1 000 mL	POCIS
Composés	CLD, CLDOH, A2	CLD et famille A, B, C, D, E		CLD	CLD	CLD	CLD
Extraction	LLE	LLE		LLE	LLE	Injection directe	SPE
Protocole	pH 2.5 (NaCl), hexane/acétone (85:15) (2x), agiter 10 min	Acidification à pH1 et extraction DCM (12 fois)		DCM/acétate d'éthyle (80:20)	DCM/acétate d'éthyle (80:20) (pH 7 (x1) et pH 4 (x2))		
Purification	-	-		-	-	-	-
Solvant injection	Cyclohexane	Hexane/acétone (85:15)	ACN/NH ₄ OAc 10 mM (1:4)	Eau/ACN (50:50)	Acétate d'éthyle		
Analyse	GC-MS/MS	GC-MS	HPLC-HRMS	HPLC-MS/MS	HPLC-MS/MS	HPLC-MS/MS	HPLC-MS/MS
Etalon interne	¹³ C-CLD et CLDOH-d1	-	-	Extraction : HBB, TBP Injection : 2,4-D-d3, Atrazine-d5		¹³ C ₁₀ -CLD	¹³ C ₁₀ -CLD
Rendements	CLD : 96-118 % CLDOH : 83-104 % A2 : 92-120 %	-	-		89 %	78-108 %	75-95 %
LOD	100 ng.L ⁻¹	-	-	10 ng.L ⁻¹	3.3 ng.L ⁻¹	-	-
LOQ	-	-	-		10 ng.L ⁻¹	1.5 ng.L ⁻¹	0.010 ng.L ⁻¹
Incertitude	20 à 35 %	-	-	30 %	35 %		

3.2 Analyses des matrices solides

3.2.1 Méthodes d'analyses dans les sols et les sédiments

Les sols et les sédiments sont des matrices complexes, pouvant présenter une forte adsorption de la CLD sur la matière organique qui la compose, qui plus est, présente un caractère inhomogène de la présence de la CLD. Ainsi, de nombreux protocoles utilisant différentes méthodes d'extraction ont été développés afin d'améliorer les rendements d'extraction, les LODs ainsi que la praticité du protocole en termes de coût et de temps (Tableau 1.4).

Les premières études de dosage de la CLD dans les sols et sédiments ont été réalisées sur des échantillons jouxtant l'usine de fabrication de Hopewell. La méthode d'extraction Soxhlet a été utilisée sur ces échantillons avec un mélange méthanol/benzène (50:50) (Borsetti & Roach, 1978; Moseman et al., 1977). En effet, à cette période, seule la méthode d'extraction Soxhlet était connue pour être efficace pour les matrices solides. Le benzène pur ne permettant pas d'extraire de manière quantitative la CLD dans les sédiments, l'ajout de méthanol, rendant le mélange d'extraction plus polaire, a permis d'augmenter les rendements d'extraction (Moseman et al., 1977). De plus, ce protocole d'extraction Soxhlet a également permis l'extraction de dérivés de la CLD comme la 8-monohydroCLD et une dihydroCLD (Borsetti & Roach, 1978). Bien que les rendements d'extraction soient satisfaisants (86 % et 99 % pour les sols et les sédiments respectivement) et que les LODs soient comprises entre 10 et 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, l'extraction Soxhlet est chronophage avec des temps d'extraction très longs compris entre 3 et 18 heures (Borsetti & Roach, 1978; Moseman et al., 1977).

Dès les années 2000, la technique de choix pour les études de dosage dans les sols a été l'ASE (Amalric et al., 2006; Bristeau et al., 2012; Devault et al., 2016; Sabatier et al., 2021; Woignier et al., 2012). Pour cela, plusieurs mélanges de solvants ont été utilisés. Dans les sols, le système hexane/acétone a souvent été utilisé pour extraire la CLD (Amalric et al., 2006; Bristeau et al., 2012; Devault et al., 2018), ainsi que la 8-monohydroCLD (Devault et al., 2018) ou encore le système DCM/acétone pour la CLD (Woignier et al., 2012). L'acétone est utilisée afin de rendre le solvant d'extraction plus polaire et d'augmenter les rendements d'extraction de la CLD. Les rendements d'extraction de la CLD contenue dans les sols par ASE sont similaires à ceux obtenus par l'extraction Soxhlet et sont compris entre 73 % et 139 % (Bristeau et al., 2012). Cependant, des interférents matriciels sont parallèlement extraits nécessitant une étape de purification supplémentaire à travers une colonne Florisil (Amalric et al., 2006) ou par une étape d'acidification (Woignier et al., 2012). Dans les sédiments, le système méthanol/DCM est utilisé pour extraire la CLD et le CLDOH (Sabatier et al., 2021). Le méthanol était anciennement utilisé pour augmenter la polarité de l'hexane mais des études ont montré que la CLD pouvait former des hémiacétales en présence de méthanol (Bichon et al., 2015; Harless et al., 1978). Ce solvant est en général plutôt évité

dans la préparation des échantillons, également dans les phases mobiles en LC et comme solvant d'injection. Le laboratoire départemental d'analyses de la Drôme (LDA26) travaillant sous l'accréditation COFRAC et la norme NF17025 a développé une méthode d'extraction de la CLD, du CLDOH et de la 8-monohydroCLD dans les sols et les sédiments par ASE avec le système hexane/acétone (50:50). Cette méthode présente une incertitude de 30 %. Un certain nombre d'études environnementales délèguent les analyses au LDA26 (Cabidoche et al., 2009; Devault et al., 2016).

De plus, le passage de la GC-MS ou MS/MS à la LC-MS/MS a permis d'abaisser les LOQs comprises entre 10 et 1000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Amalric et al., 2006; Devault et al., 2016; Woignier et al., 2012) à 20 ng.kg^{-1} (He et al., 2015) pour les sols.

Une des méthodes les moins coûteuses est la LLE. Martin-Laurent et collègues (2014) ont développé un protocole d'extraction LLE avec du DCM, précédé et suivi d'une étape de sonication pour détecter la CLD, la 8-monohydroCLD et la 2,8-dihydroCLD dans les sols. Des rendements compris entre 16 et 26 % ont été obtenus. Malgré ces faibles rendements, la CLD a été détectée ainsi que la 8-monohydroCLD, dans plusieurs échantillons (0.649 mg.kg^{-1} contre 35.4 mg.kg^{-1} pour la CLD dans l'andosol). La 2,8-dihydroCLD n'a pas été détectée dans les échantillons analysés. La $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD, utilisée comme étalon interne, est un bon traceur pour suivre l'extraction de la CLD.

Chevallier et collègues (2019) ont développé un protocole LLE pour analyser la CLD ainsi que les produits de transformation issus des familles A, B, C, D et E. Pour cela, après acidification de l'échantillon de sol à pH 1, l'échantillon est mis en contact dans de l'eau. Douze extractions successives avec du DCM sont ensuite réalisées. Des analyses semi-quantitatives en GC-MS et en LC-HRMS ont été réalisées afin de mettre en évidence la présence de ces PTs dans les sols antillais. En 2020, Lomheim et collègues ont décrit une méthode d'extraction LLE pour les sols en utilisant un système hexane/acétone (85:15) permettant l'analyse simultanée de la CLD, d'hydroCLDs, et de composés des familles B et C (Lomheim et al., 2020).

D'autres méthodes d'extraction ont été utilisées sur des échantillons de sols comme la SPME (Soler et al., 2014). La méthode développée pour l'eau a été adaptée à des matrices solides comme le sol. Pour cela, l'échantillon est d'abord séché puis broyé. Le sol est ensuite remis en suspension dans de l'eau et la CLD est extraite avec une fibre SPME en PDMS-DVB à partir de la matrice eau. Suivie d'une analyse en GC-MS/MS, des LODs de 0.015 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ont été atteints contre 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en GC-MS. Cette technique a permis d'abaisser considérablement les LODs de la CLD dans les sols, en comparaison avec les méthodes plus traditionnelles utilisant la GC-MS.

Tableau 1.4. Méthodes d'analyse de la CLD dans les sols et les sédiments

Référence	Moseman et al., 1977	Borsetti et al., 1978	Amalric et al., 2006	Woignier et al., 2012	He et al., 2014	Devault et al., 2016
Matrice	Sol et sédiment	Sol	Sol	Sol	Sol	Sol
Masse	20 g	200 g	10 g		100 g	
Composés						
Préparation échantillon	Séchage	-	Séchage, broyage et tamisage	Séchage et broyage	Mixer	Séchage
Extraction	Soxhlet	Soxhlet	ASE	ASE	Solide-liquide	ASE
Protocole	MeOH/benzène (1:1) pendant 16 à 18h	ACN/eau (overnight)	Hexane/acétone (1:1)	DCM/acétone (50:50) à 100 °C et à 120 bars (LDA26)	ACN + chloroforme (x2) Na ₂ SO ₄	DCM/acétone (50:50) (LDA26)
Purification	Florisil		Florisil	Acide sulfurique	Filtration	
Solvant injection	MeOH/benzène/ACN/hexane (1:4:2:93)	Benzène/MeOH (98:2)	Éther diéthylique	DCM/acétone	ACN	Cyclohexane
Analyse	GC-ECD	GC-ECD	GC-MS	GC-ECD et GC-MS/MS	HPLC-MS/MS	GC-MS/MS ou GC-ECD
Etalons internes	-	-	CB53	HBB et PCB 193	-	HBB et TPP
Rendements	Sols : 86 % Sédiments : 99 %	-	81 %	85 %	CLD : 73-84 % CLDOH : 77-88 %	CLD : 83 % 8-hydroCLD : 68 %
LOD	10-20 µg.kg ⁻¹	-	330 µg.kg ⁻¹	-	CLD : 0.005 µg.kg ⁻¹ CLDOH : 0.2 µg.kg ⁻¹	-
LOQ	-	-	1 000 µg.kg ⁻¹	10 µg.kg ⁻¹	CLD : 0.02 µg.kg ⁻¹ CLDOH : 0.3 µg.kg ⁻¹	10 µg.kg ⁻¹
Incertitude	-	-		30 %		-

Tableau 1.4. Suite et fin

Référence	Lomheim et al., 2020	Sabatier et al., 2021	Martin-Laurent et al., 2014	Bristeau et al., 2014	Soler et al., 2014	Chevallier et al., 2019	
Matrice	Sol (microcosme)	Sédiment	Sol	Sol	Sol	Sol et sédiment	
Masse		3 g	10 g	5 g	200 g	4 g	
Composés							
Préparation échantillon		Lyophilisation	Séchage et broyage	Sécher et broyer	Séchage		
Extraction	LLE	ASE	LLE	ASE	SPME	LLE	
Protocole	Acétone/hexane (15:85)	MeOH/DCM (100 °C, 100 bar, x3)	Tampon phosphate 10 mM à pH7, ultrasons (10 min), DCM, ultrasons (10 min)	Acétone/hexane (50:50) (100 °C, x3)	PDMS/DVB à 80 °C pen- dant 10 min	15 mL d'eau (pH 1) DCM (12 fois)	
Purification	Filtration	SPE + filtration	Florisil				
Solvant injection	Méthanol	Méthanol	DCM	Cyclohexane		Hexane/ac étone (85:15)	ACN/NH ₄ O Ac à 10 mM (1:4)
Analyse	LC-MS	LC-MS/MS	GC-MS	GC-MS/MS	GC-MS et GC-MS/MS	GC-MS	LC-HRMS
Etalons internes			¹³ C ₁₀ -CLD anthracène-d10	Trans-nonachlor			
Rendements		CLD : 77 % CLDOH : 71 %	16-26 %	73-139 %			
LOD		CLD : 0.07 µg.kg ⁻¹ CLDOH : 0.033 µg.kg ⁻¹	4.77 à 8.84 µg.kg ⁻¹	30 µg.kg ⁻¹	GC-MS : 50 µg.kg ⁻¹ GC-MS/MS : 0.015 µg.kg ⁻¹		
LOQ		CLD : 0.22 µg.kg ⁻¹ CLDOH : 0.1 µg.kg ⁻¹			GC-MS : 0.200 µg.kg ⁻¹ GC-MS/MS : 0.08 µg.kg ⁻¹		
Incertitude		30 %	30 %		30 %		

3.2.2 Méthode d'analyse pour les matrices solides d'origine animale

3.2.2.1 Dans les fèces

La première méthode d'extraction de la CLD dans les fèces a été développée par Blanke et collègues (1977). Elle reprend le protocole LLE développé pour le sang, consistant à extraire la CLD avec un mélange hexane/acétone après acidification. Ensuite, une étape de purification a été ajoutée. Pour cela, des lavages de la phase organique avec un tampon phosphate puis du NaOH sont réalisés afin d'enlever les émulsions présentes qui constituent un piège à CLD. La phase aqueuse (NaOH) est ensuite lavée avec de l'hexane afin de retirer les interférents matriciels de l'extrait, comme les lipides, puis acidifiée avec de l'acide sulfurique. La solution est finalement extraite avec un mélange hexane/acétone (85:15). Cette méthode a été par la suite utilisée par Cohn et collègues (1978) ainsi que Boylan et collègues (1979), ces derniers obtenant des rendements d'extraction pour la ^{14}C -CLD de 96 %. Pour le mirex, des méthodes d'extraction ont aussi été développées en LLE avec l'utilisation d'un mélange hexane/isopropanol ou alors en extraction solide-liquide à l'aide d'un homogénéiseur avec de l'ACN (Stein & Pittman, 1977).

Plus récemment, Saint-Hilaire, Bertin et collègues (2018) ont développé une méthode d'extraction de la CLD et du CLDOH dans les fèces utilisant la méthode QuEChERS. L'échantillon lyophilisé a été réhydraté puis extrait avec de l'ACN en présence de sels QuEChERS (MgSO_4 , NaCl, citrate de sodium et citrate de sodium sesquihydrate). Le surnageant est ensuite purifié par d-SPE (PSA, C18, carbone graphite noir et MgSO_4). Des rendements d'extraction d'environ 70 % ont été obtenus pour la CLD et le CLDOH.

3.2.2.2 Dans le foie

Le foie contient des taux élevés de sucres, de lipides et de protéines. Ainsi, des méthodes d'extraction particulières pour cette matrice doivent être développées. Les premières études ont été réalisées sur les foies des ouvriers contaminés à la CLD puis des études plus récentes se sont intéressées au devenir de la CLD chez les animaux d'élevage. Pour cela, des extractions ont été réalisées avec un mélange hexane/acétone (85:15) (Fourcot et al., 2020; Guzelian et al., 1980) ou benzène/isopropanol (2:1) (Stafford et al., 1978). Une étape d'acidification avec de l'acide sulfurique est réalisée avant l'extraction (Guzelian et al., 1980) ou après l'extraction (Fourcot et al., 2020; Stafford et al., 1978) afin de retirer les lipides qui pourraient interférer lors de l'analyse. De plus, la méthode développée par Stafford et collègues (1978) a permis de détecter un produit de transformation de la CLD dans le foie, une monohydroCLD, avec un pic correspondant à 5 à 30 % du pic de la CLD (Stafford et al., 1978). L'analyse en LC-MS/MS a permis d'accroître la sensibilité par rapport à la GC-ECD qui était couramment utilisée dans les premières études sur la CLD passant de $500 \mu\text{g.kg}^{-1}$ en GC-ECD (Guzelian et al., 1980) à $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ en LC-

MS/MS (Fourcot et al., 2020). Récemment, du foie de bœuf a été extrait avec un système hexane/acétone (85:15) suivi d'une analyse LC-MS/MS (Lavison-Bompard et al., 2021). Des LODs de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ et des rendements d'extraction compris entre 99 et 106 % ont ainsi été obtenus.

Plus récemment, Saint-Hilaire, Inthavong et collègues (2018) ont développé une méthode d'extraction QuEChERS de la CLD et du CLDOH pour le foie de brebis. Après extraction avec de l'ACN, une étape de purification avec de la d-SPE a été employée, comme pour les fèces, afin de retirer les interférents matriciels spécifiques de cette matrice (lipides et sucres). La dilution isotopique avec la $^{13}\text{C}_8$ -CLD et le $^{13}\text{C}_8$ -CLDOH a permis d'avoir des rendements d'extraction compris entre 93 et 105 % pour la CLD et 102 à 112 % pour le CLDOH. Des LOQs de $1.36 \mu\text{g.kg}^{-1}$ et $2.50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ont été obtenus pour la CLD et le CLDOH respectivement, analysés par LC-MS/MS.

Parallèlement, une méthode d'analyse sans extraction préalable a été développée en utilisant l'imagerie MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization coupled to Time of Flight* en tandem) (Lagarrigue et al., 2014). En réalisant des coupes de foie, cette technique permet de localiser la contamination à la CLD de manière tridimensionnelle. Cependant, la quantification avec la méthode d'imagerie MALDI est assez complexe. Pour cause, l'intensité du composé étudié ne reflète pas sa quantité réelle. Plusieurs composés/interférents peuvent en effet être localisés au même endroit, rendant sa quantification difficile. L'utilisation d'un étalon interne est donc requise. Cette méthode permet d'apporter de nouvelles informations sur le devenir de la CLD dans le foie malgré sa faible sensibilité (LOD : 58.2 mg.kg^{-1}).

3.2.2.3 Autres matrices

La CLD a souvent été recherchée dans des espèces aquatiques vivant dans les eaux douces ou les eaux du littoral afin d'évaluer la diffusion de la CLD dans les différents compartiments environnementaux. Ainsi, en 1979, Meijs et Ernst ont développé une méthode d'analyse de la CLD pour l'anguille (Meijs & Ernst, 1979). L'extraction de l'anguille a lieu par macération dans un mélange isopropanol/chloroforme pendant 16 h. Après une purification à l'hexane, l'extrait est purifié une seconde fois sur une colonne en gel de silice, éluée par un mélange DCM/hexane. Cette méthode a permis d'obtenir des rendements jusqu'à 101 %. La même année, Carver et Griffith ont publié une méthode d'extraction de la CLD, de la 8-monohydroCLD et de la 2,8-dihydroCLD dans le poisson, les huîtres et les crustacés (Carver & Griffith, 1979). Dans un premier temps, mixés avec un mélange isopropanol/benzène, les échantillons sont ensuite macérés toute la nuit dans ce mélange (Carver & Griffith, 1979). Des rendements de 87 % pour la CLD, 85 % pour la 8-monohydroCLD et 81 % pour la 2,8-dihydroCLD ont été obtenus. Pour la crevette, Fisher et Clark (1990) ont réalisé une extraction LLE avec un mélange toluène/acétate d'éthyle (3:1) suivie d'une extraction avec un mélange éther de pétrole/acide sulfurique.

Chez l'écrevisse, un protocole d'extraction par ASE avec un système hexane/DCM (90:10) suivi d'une analyse GC-ECD ont permis d'obtenir une LOD de $0.02 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Baudry et al., 2022).

Pour les végétaux, Clostre, Letourmy et collègues (2014) ont réalisé, via le LDA26, des extraction ASE grâce à un mélange DCM/acétone afin de détecter la CLD et la 8-monohydroCLD. La même année, Soler et collègues ont développé une méthode d'analyse des ananas par SPME. L'échantillon, préalablement mixé et remis en suspension dans de l'eau, est extrait par une fibre en PDMS/DVB pendant 10 minutes à 80°C . La CLD est adsorbée sur les sargasses qui dérivent de l'océan Atlantique vers la mer des Caraïbes. La CLD, la 8-monohydro et le CLDOH sont extraits par mise en contact avec de l'acétone pendant 24 h. L'acétone est ensuite extrait avec un mélange DCM/eau saturée en NaCl (90:10) et l'extrait est analysé en LC-MS/MS dont les LOQs de $0.5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour la CLD et le CLDOH et $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour la 8-monohydroCLD ont été obtenues (Devault et al., 2022).

Jondreville et collègues (2014) ont développé une méthode d'extraction LLE avec le système hexane/acétone (85:15) dans les œufs de canard afin de suivre l'élimination de la CLD. Pour la graisse, la même LLE est précédée de deux extractions successives avec le système ACN/DCM (75:25). Pour la graisse périnéale de bœuf, trois extractions successives avec un système ACN/DCM (75:15) ont permis d'obtenir des LODs de $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Lavison-Bompard et al., 2021). Un protocole d'extraction QuEChERS a été développé pour extraire plusieurs types de matrices provenant de plusieurs animaux, afin d'avoir une méthode dite universelle (Devriendt-Renault et al., 2023; Martin et al., 2020). Plusieurs muscles et abats de bœuf et de porc, du poulet, des œufs, des poissons ainsi que des crustacés décapodes (homards et écrevisses) ont été extraits avec de l'ACN puis purifiés par d-SPE avant une analyse HPLC-MS/MS. Des rendements d'extraction compris entre 92 et 105 % et entre 91 et 107 % ont été obtenus pour la CLD et le CLDOH respectivement, suivant la matrice. La LOD a été fixée à 0.7mg.kg^{-1} pour les deux composés (Devriendt-Renault et al., 2023).

4. Conclusion de l'état de l'art et objectifs de la thèse

Bien que la CLD ne soit plus utilisée depuis une trentaine d'années, l'environnement antillais ainsi que la population restent touchés par cette molécule. Une cartographie de la contamination en CLD de la Guadeloupe et de la Martinique, complétée au fil des années par de nouvelles analyses, a permis de définir les zones à risque pour la population. Des restrictions de pêches ainsi que des recommandations émises par l'ANSES sur les gestes à adopter pour éviter la consommation de produits contaminés ont été mises en place. Cependant, l'étude Kannari a montré chez plus de 90 % des personnes engagées des quantités détectables de CLD, ce qui illustre la forte imprégnation de la population antillaise à ce polluant. De nombreuses recherches ont été réalisées afin de trouver des méthodes efficaces pour dégrader la CLD. À la suite de ces expériences, de nombreux PTs ont été découverts, caractérisés

et synthétisés lors de la précédente thèse d'Oriane Della-Negra (2017-2020) et de celle de Marion Chevallier (2014-2017). Des analyses environnementales préliminaires ont permis de détecter certains produits de transformation dans l'environnement antillais, montrant l'importance de développer des protocoles analytiques adaptés à ces nouveaux composés dont le comportement analytique peut varier de celui de la CLD. En effet, pour les organochlorés qui comportent des propriétés différentes, plusieurs protocoles ont été décrits avec un changement de solvant ou bien des températures adaptées à la volatilité des composés étudiés. De plus, en fonction des matrices étudiées, certains protocoles d'extraction sont favorisés comme l'ASE pour l'extraction de sols et de sédiments, tandis que l'eau est couramment extraite par LLE. Aujourd'hui, à l'exception du CLDOH et de la 8-monohydroCLD, aucune information n'est disponible sur la présence/absence d'autres PTs, faute de standards et de méthodes analytiques satisfaisantes. Ainsi, le besoin de développer des protocoles permettant à la fois l'analyse de la CLD et de ses nombreux PTs (Figure 1.29) dans différentes matrices est nécessaire. Cela permettra notamment de connaître l'étendue de la contamination et de l'évolution de la pollution avec la question de l'émergence possible d'une pollution secondaire aux PTs de la CLD.

C'est dans ce contexte que s'inscrit mon sujet de thèse qui a pour objectif le développement de protocoles d'analyse pour la CLD et ses PTs. Au regard des différentes méthodes d'extractions existantes avec leurs avantages et inconvénients, ainsi que des développements déjà réalisés pour la CLD, plusieurs protocoles ont été mis au point en choisissant les méthodes en fonction des besoins analytiques (limite de détection à atteindre), des contraintes techniques que nous avons (machines analytiques disponibles) et de la nature des matrices à analyser. L'objectif était aussi de proposer des protocoles d'analyses simples, rapides et accessibles pour l'analyse d'un large choix de matrices complexes afin que d'autres laboratoires puissent utiliser ses protocoles pour des analyses de routine.

Pour répondre à ces objectifs, plusieurs projets collaboratifs nationaux et internationaux ont été mis en place. Dans un premier temps, une étude de dégradation de la CLD en conditions méthanogènes a été réalisée avec l'ENSAIA et L'Université de Lorraine (Nancy), projet porté par Cyril Feidt et Yves Le Roux. Précédemment, la méthanisation avait permis de dégrader des composés organochlorés tels que le HCB et le HCH. Ainsi, nous avons voulu apporter la preuve de concept que ce processus pouvait être performant pour dégrader la CLD. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'analyse des produits de transformation de la CLD ainsi que d'autres organochlorés dans les eaux de surface et souterraines à travers un projet en collaboration avec le BRGM et le CIRAD (Jean-Baptiste Charlier et Lai-Ting Pak, respectivement). En effet, un suivi régulier de ces matrices est actuellement réalisé par le LDA26 en suivant la CLD, le CLDOH et la 8-monohydroCLD (A2) ainsi que plusieurs autres organochlorés. Cependant, il n'existe pas de méthode permettant de rechercher les autres PTs de la CLD dans ces eaux. Il est pourtant nécessaire de les intégrer pour avoir une vision globale de la contamination des eaux et

accroître nos connaissances sur le transfert de ces composés. Enfin, le troisième projet s'inscrit dans un cadre international avec l'analyse des sédiments de la James River, lieu historique de la contamination de la CLD. Ce lieu a été choisi pour ces conditions anaérobies ainsi que la présence de bactéries indigènes qui ont peut-être pu s'adapter à la CLD et développer des capacités à la dégrader. La Figure 1.29 suivante résume les différents projets qui seront abordés dans les chapitres suivants.

	Les digestats issus de la méthanisation	Les eaux de surface et souterraines	Les sédiments de la James River
Extraction	Extraction QuEChERS	Extraction SPME	Extraction QuEChERS
Purification	Non	Non	SPE et SPME
Analyse	GC-MS et LC-HRMS	GC-MS	GC-MS et LC-HRMS
Composés recherchés	CLD, familles A, B, C, F et G	CLD, familles A, B et G, autres organochlorés	CLD, familles A,B,C,D, F et G

Figure 1.29. Schéma explicatif des expériences réalisées dans le cadre de ma thèse.

- Chapitre 2 - Mise en évidence d'une dégradation de la chlordécone en conditions méthanogènes grâce aux dosages de la chlordécone et de ses PTs

Contribution de l'auteur :

Martin, D. E.*, Alnajjar, P.*, Muselet, D., Soligot-Hognon, C., Kanso, H., Pacaud, S., Le Roux Y., Saaidi, P.-L. & Feidt, C. (2023). Efficient biodegradation of the recalcitrant organochlorine pesticide chlordecone under methanogenic conditions. *Science of The Total Environment*, 903, 166345.

* : contribution équivalente

Pour la partie expérimentale de l'expérience de dégradation en condition méthanogène, la préparation ainsi que les suivis des conditions méthanogènes (pH, potentiel d'oxydo-réduction et production de biogaz) des différents réplicats sacrificiels ont été réalisés à l'ENSAIA à Nancy par Perla Alnajjar (Doctorante, Université de Lorraine) aidée par Claire Soligot (Technicienne, Université de Lorraine). Les échantillons ont ensuite été envoyés au Genoscope pour les analyses chimiques.

Préalablement à l'expérience de dégradation, j'ai mis au point la méthode d'analyse de la CLD et ses PTs, synthétisés par Hussein Kanso (chercheur CDD, CEA). J'ai d'abord adapté les méthodes chromatographiques GC et LC existantes du laboratoire pour les rendre plus courtes tout en conservant une bonne séparation entre tous les composés recherchés. J'ai effectué les paramétrages en spectrométrie de masse (GC-MS et LC-HRMS), notamment le choix des ions et leur fenêtre d'acquisition en SIM (*Single Ion Monitoring*). J'ai ensuite mis au point le protocole d'extraction avec la méthode QuEChERS en faisant varier de nombreux paramètres (solvants, quantité et nature des sels, pH, volume d'échantillon). Cela m'a permis d'affiner les méthodes GC-MS et LC-MS pour tenir compte des effets matrices et du possible carryover de la CLD. J'ai alors pu évaluer les performances du protocole analytique complet à travers les limites de détection, les rendements d'extractions ainsi que les exactitudes.

Les extractions des échantillons biologiques ont ensuite été réalisées avec l'aide de Delphine Muselet (Technicienne, CEA) et également de Perla Alnajjar, lors de ses séjours au Genoscope. Les analyses GC-MS ont été réalisées par Delphine Muselet et moi-même tandis que j'ai pris en charge la gestion complète des analyses en LC-HRMS tout comme les traitements de toutes les données analytiques GC et LC. Pour les besoins de l'article, Perla Alnajjar a effectué des analyses statistiques supplémentaires à partir des résultats finaux que j'avais obtenus.

Pour l'article, nous avons écrit Perla Alnajjar et moi la première version, en rédigeant nos parties respectives et réalisé les figures de l'article et du *Supporting Informations* correspondants aux parties que nous avons réalisées expérimentalement. Les corrections ont ensuite été effectuées par Pierre-Loïc Saaidi, Yves Le Roux et Cyril Feidt, ainsi que par Perla Alnajjar et moi-même.

1. Résumé

Dès 2009, la problématique de la contamination des animaux à la chlordécone (CLD) a émergé aux Antilles françaises à la suite de contrôles réalisés dans les abattoirs. L'évaluation des pratiques d'agriculture à risque a permis d'établir plusieurs mesures en collaboration avec les éleveurs. Afin de limiter la contamination des animaux, il a, par exemple, été spécifié de limiter l'abreuvement des animaux dans des réserves d'eaux contaminées, et de favoriser la récupération de l'eau de pluie.

En parallèle, des équipes de recherche ont étudié le temps de demi-vie de la CLD chez les animaux exposés (Fourcot et al., 2021; Fournier et al., 2017). Estimé à une vingtaine de jours chez la brebis et la chèvre, la CLD est éliminée essentiellement via les fèces (86 % sous la forme CLD ou CLDOH) et plus faiblement via les urines (3.6 % sous la forme CLD et CLDOH-conjugué) (Saint-Hilaire et al., 2021). Ces résultats suggèrent qu'une décontamination des animaux est possible avant leur abatage. Cette solution, envisageable à condition que les animaux soient déplacés sur des zones exempt de chlordécone, soulève cependant la question de la gestion de ces déchets contaminés. De plus, la volonté sociétale de tendre vers le « zéro chlordécone » implique de trouver des solutions durables et en accord avec les enjeux environnementaux actuels, tels l'utilisation des énergies renouvelables.

La méthanisation ou digestion anaérobie (AD) est un procédé s'appuyant sur la dégradation de la matière organique en condition contrôlée (température) et en anaérobiose (Gunnerson & Stuckey, 1986). La dégradation des microorganismes entraîne la formation de biogaz composé majoritairement de méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone (CO_2) et à moindre échelle, de sulfure d'hydrogène (H_2S) (Bharathiraja et al., 2018). Ce biogaz peut être valorisé sous différentes formes, notamment la production électrique ou le biocarburant. La méthanisation produit également un digestat, riche en nutriments organiques et inorganiques, pouvant, lui-même, être valorisé dans l'agriculture en tant que fertilisant (Wang & Lee, 2021). La composition des digestats doit être étudiée afin de ne pas (ré-)introduire des contaminants dans l'environnement. Ces dernières années, les recherches sur la méthanisation pour le traitement des déchets organiques se sont multipliées. Ainsi, ce processus est le plus utilisé et le plus efficace pour la gestion des déchets (Ampese et al., 2022). Dans de précédentes études, le processus de méthanisation de déchets contaminés par des organochlorés, tels que le HCB ou HCH a été étudié. Une dégradation de ces composés a été observée (Fathepure et al., 1988; Lian et al., 2018). Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de Cyril Feidt (Université de Lorraine, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA)) et de Yves Le Roux (Université de Lorraine, ENSAIA, Chaire Agro Métha) financée par l'ANSES (PNR-EST, Projet Dechlormeth), nous avons cherché à savoir si, en conditions méthanogènes similaires à celles des méthaniseurs, la CLD pouvait être dégradée.

Des digestats issus de la méthanisation de déchets d'origine animale et végétale ont été utilisés.

Supplémentés à $19.5 \pm 0.5 \text{ mg.L}^{-1}$ en CLD, ils ont ensuite été incubés à $37.5 \text{ }^\circ\text{C}$ (conditions mésophiles) pour les digestats d'origine animale et à $55 \text{ }^\circ\text{C}$ (conditions thermophiles) pour les digestats d'origine végétale, entre 0 et 40 jours. L'expérience a été réalisée en mode sacrificiel, avec plusieurs réplicats biologiques stoppés à différents temps (0, 5, 20 et 40 jours). Un suivi de la production de biogaz, du pH et du potentiel d'oxydo-réduction a été réalisé afin de s'assurer que la présence de la CLD n'avait pas d'effets négatifs sur la production de biogaz et les conditions méthanogènes générées. En parallèle, un protocole d'extraction QuEChERS (de l'anglais *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*) a été développé pour la matrice digestat. L'extrait obtenu a ensuite été analysé de deux façons : 1. par GC-MS pour rechercher les produits de transformation (PTs) des familles B (polychloroindènes), F (famille des composés soufrés) et G (CLDOH et hydroCLDOH) ; 2. en LC-HRMS pour rechercher les PTs des familles A (hydroCLD) et de la famille C (acides polychloroindènedicarboxyliques). Les limites de détection obtenues pour tous ces PTS correspondent à moins de 1 % de conversion de la CLD. La méthode analytique développée permet donc de suivre le devenir de la CLD en conditions méthanogènes, en recherchant tous les types de PTs connus à ce jour.

Une diminution de la concentration en CLD a été observée dans les deux conditions, mais la condition thermophile s'est révélée nettement plus efficace que la condition mésophile. De plus, l'apparition concomitante de PTs issus de plusieurs familles, telles que les familles A, B et C ont permis d'écarter l'hypothèse d'une adsorption de la CLD et de confirmer sa dégradation. Les bilans de matière au bout de 40 jours, même en tenant compte de tous les PTs détectés et quantifiés, n'ont pas permis de rendre compte du devenir de toute la chlordécone.

2. Abstract

Anaerobic digestion (AD) has long been studied as an effective environmental and economic strategy for treating matrices contaminated with recalcitrant pollutants. In the present work, we investigated the bioremediation potential of AD on organic waste contaminated with chlordane (CLD), an organochlorine pesticide extensively used in the French West Indies and classified among the most persistent organic pollutants. Digestates from animal and plant origins were supplemented with CLD and incubated under methanogenic conditions for over 40 days. The redox potential and pH monitoring showed that methanogenic conditions were preserved during the entire incubation period despite the presence of CLD. In addition, the comparison of the total biogas generated from digestates with and without CLD demonstrated no adverse effects of CLD on biogas production. For the first time, a QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) extraction method, followed by GC–MS and LC-HRMS analyses, was developed to quantify CLD and its main known transformation products (TPs) in AD experiments. A decrease in CLD concentrations was evident to a greater extent under thermophilic conditions (55 °C) compared to mesophilic conditions (37.5 °C) (CLD removal of 85 % and 42 %, respectively, after 40 days of incubation). CLD degradation was confirmed by the detection and quantification of several TPs: 10- monohydroCLD (A1), two dihydroCLDs different from 2,8-dihydroCLD (A3), pentachloroindene (B1), tetra- chloroindenes (B2, B3/B4), tetra- and tri-chloroindene-carboxylic acids (C1/C2, C3/C4). Determining TPs concentrations using the QuEChERS method provided an overview of CLD fate in AD. Overall, these results reveal that AD processes can efficiently degrade CLD into several TPs from A, B, and C families while maintaining satisfactory biogas production. They pave the way to developing a scaled-up AD process capable of treating CLD- contaminated organic wastes produced by farming, thus stopping any further transfer of CLD.

3. Introduction

Chlordecone ($C_{10}Cl_{10}H_2O_2$; CLD) is an organochlorine pesticide that was extensively used in the French West Indies (FWI) between 1972 and 1993 against the banana black weevil, *Cosmopolites sordidus*. Its massive application has resulted in long-term environmental contamination of CLD, where concentrations in soils higher than 1 mg.kg⁻¹ of DM are still recorded (Desprats, 2021). CLD also accumulates in food chains, with for example, the contamination of animals reared outdoors through involuntary soil ingestion. Contaminated food is the main source of the considerable human exposure observed (over 90 % of the FWI population included in the Kannari study had detectable amounts of CLD in their blood) (Dereumeaux et al., 2020).

CLD can be metabolized in humans and in several other mammals. According to Fariss et al., CLD is initially reduced in the liver to chlordecol (CLDOH), its alcohol form, which can both be further transformed into sulfate and/or glucuronide conjugates (Fariss et al., 1980). In ewes contaminated intravenously with CLD, its elimination occurs primarily through feces (largely as CLD and to a lesser extent as CLDOH) and marginally in urine (CLD and conjugated forms) (Saint-Hilaire et al., 2021). CLD has been shown to exhibit half-lives spanning from 5 days (laying hens) to 55 days (pigs) (Fourcot et al., 2020; Jondreville et al., 2014). Thus, a decrease in its concentration in animal products could be reached if animals were depurated prior to slaughtering (Fournier et al., 2017; Lastel et al., 2016). Such a decontamination strategy consists of moving the livestock animals to a non-contaminated ground, where they can excrete CLD and CLDOH from their bodies. However, the resulting contaminated livestock effluents must be treated to prevent the translocation of pollution to another environmental compartment. Secondary pollution could also occur if contaminated agricultural wastes were transformed into compost fertilizers and amended on non-contaminated soils. These examples illustrate the need to find a satisfactory process to treat these contaminated organic wastes. A solid societal desire to achieve "zero Chlordecone" has emerged in the FWI in the last couple of years. This particular context prompted us to investigate the feasibility of degrading chlordecone present in organic wastes.

The abiotic and biotic transformations of CLD have been the subject of numerous studies. Dechlorination of CLD was achieved abiotically after UV irradiation as well as under reducing conditions (zero-valent iron), leading to the formation of hydrochlordecones (family A, $C_{10}Cl_{10-n}O_2H_{2+n}$, $1 \leq n \leq 5$) (). Interestingly, ring-opening of the bishomocubane cage of CLD was observed in presence of reduced vitamin B₁₂ resulting in the additional formation of polychloroindenes (family B, $C_9Cl_{6-n}H_{2+n}$, $1 \leq n \leq 3$) and polychloroindenecarboxylic acids (family C, $C_{10}Cl_{5-n}H_{3+n}O_2$, $1 \leq n \leq 5$) (Chevallier et al., 2019; Schrauzer & Katz, 1978).

Several attempts to degrade CLD using micro-organisms under aerobic conditions have been made over the last four decades. Apart from a few studies (Esegni et al., 2019; George & Claxton, 1988; Orndorff & Colwell, 1980; Sakakibara et al., 2011) for which the analytical monitoring was questionable, experiments that used freshly added ¹⁴C-CLD showed no or very limited CLD biodegradation (Merlin et al., 2014; Francis & Metcalf, 1984; Fernández-Bayo et al., 2013).

In contrast, a number of successful anaerobic biotransformations of CLD were reported (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Hellal et al., 2021; Jablonski et al., 1996; Lomheim et al., 2020, 2021). Generally, CLD decrease was coupled with the production of TPs from families A, B, and C (Figure 2.1) (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019; Lomheim et al., 2020, 2021); as recently described, longer-term incubation led to lower chlorinated congeners, including a fully dechlorinated indenecarboxylic acid (Lomheim et al., 2021). In the model organism *Citrobacter* sp. 86,

Barbance and colleagues demonstrated the involvement of corrinoids (analogs of vitamin B₁₂), produced by bacterium, in CLD degradation (Barbance et al., 2020). Under anoxic and confined conditions, sulfur-containing TPs (e.g., chlordecthiol and its S-methylated derivative, Figure 2.1) were formed in the presence of the sulfur-reducing bacterium *Desulfovibrio* sp. 86 (Della-Negra et al., 2020) as well as in the presence of consortia constituted of a dominant archaeon genus *Methanobacterium* and several bacterial genera including *Desulfovibrio* (Hellal et al., 2021).

The most rapid biotransformation of CLD was described by Jablonski and colleagues with the archaeon *Methanosarcina thermophila*, which degraded ¹⁴C-CLD at 50 °C by up to 85 % within ten days under methanogenic conditions (Jablonski et al., 1996). In this study, <1 % of the initial radioactivity of CLD was found at the end as methane, proving that CLD was not totally mineralized (Jablonski et al., 1996). Monitoring by thin-layer chromatography (TLC) allowed the authors to detect polar and nonpolar TPs that may correspond to those previously identified after chemical degradation induced via vitamin B₁₂ (Schrauzer & Katz, 1978). Jablonski et al. (1996) also degraded CLD in the presence of cofactor F₄₃₀ and factor III, both isolated from *M. thermophila* and *in situ* reduced by Ti(III) citrate. While cofactor F₄₃₀ (Ni bound to a reduced porphyrin cycle) is common to all methanogenic archaea (Ragsdale, 2009), factor III (Co-corrinoid) is used by the CO-dehydrogenase of *M. thermophila* to oxidize CO into CO₂ and thus achieve the acetoclastic pathway (Ferry, 2010; Jablonski et al., 1993). Other corrinoids are also produced during the various methanogenic pathways (Lessner, 2009) and, when reduced, might also participate in CLD degradation. The above-mentioned studies highlight the importance of reducing conditions along with the presence of adequate microorganisms, particularly methanogens, sulfur-reducing bacteria, and corrinoid producers. These observations have led us to hypothesize that anaerobic digestion (AD), which consists of synergistic and sequential processes carried out by different bacteria and archaea under redox potentials lower than -300 mV (Moletta, 1993), could provide satisfactory reductive conditions and suitable catalysts to open the bishomocubane structure of CLD, while removing many of the chlorine atoms, and might represent the first steps towards its complete elimination.

AD has been, in fact, previously described as an effective strategy to induce the transformation of different recalcitrant pollutants, especially organochlorine compounds such as polychlorinated biphenyls (PCBs) (Bertin et al., 2011), pentachlorophenol (PCP) (Christiansen et al., 1995), hexachlorobenzene (HCB) (Fathepure et al., 1988), γ -hexachlorocyclohexane (Lian et al., 2020), 2,2-bis-(p-chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane (DDT) (Jensen et al., 1972), and dechlorane plus (Sverko et al., 2015). Mirex, an organochlorine with a bis-homocubane structure similar to CLD, was transformed by sewage sludge microbes under methanogenic conditions (Andrade & Wheeler, 1974).

Therefore, the present study aimed to decipher whether the AD of CLD-contaminated biomass could result in the degradation of CLD, consequently representing an effective treatment strategy for

organic wastes that could be implemented in industrial methanizers in the FWI. We first ensured that CLD supplemented in the digestate did not alter biogas production. We successfully developed a QuEChERS protocol followed by GC-MS and LC-HRMS analyses that allowed the accurate extraction and quantification of CLD and, for the first time, its main TPs from the complex digestate matrix. Finally, we studied the fate of CLD in two AD experiments: (i) a digestate from livestock effluents under mesophilic conditions and (ii) a digestate from plant origin under thermophilic conditions.

4. Materials and methods:

4.1 Chlordecone and its transformation products used as standards

For the incubation experiments, chlordecone (A-7007, purity 98 %) was supplied by Azur Isotopes and dissolved in ethanol. For the extraction and the analysis parts, chlordecone (purity >99 %) supplied by Sigma was used for the calibration curves of CLD. Fast chemical equilibrium in solution was observed for several indene derivatives (B3 \leftrightarrow B4, C1 \leftrightarrow C2, C3 \leftrightarrow C4, D1 \leftrightarrow D2, and D3 \leftrightarrow D4) (Chevallier et al., 2019); for clarity reasons, we will consider these pairs, hereafter, as one TP with the notation "X/Y". 10-monohydrochlordecone (A1), 8-monohydrochlordecone (A2), 2,8-dihydrochlordecone (A3), 2,4,5,6,7-pentachloroindene (B1), 4,5,6,7-tetrachloroindene (B2), 2,4,6,7-tetrachloroindene and 2,4,5,7-tetrachloroindene (B3/B4), 2,5,6,7-tetrachloro-1*H*-indene-4-carboxylic acid and 2,4,5,6-tetrachloro-1*H*-indene-4-carboxylic acid (C1/C2), 2,5,7-trichloro-1*H*-indene-4-carboxylic acid and 2,4,6-trichloro-1*H*-indene-4-carboxylic acid (C3/C4) were synthesized according to Chevallier et al. (2019) and Wilson & Zehr (1979) using CLD supplied by Azur Isotopes. Chlordecthiol (F1, C₁₀Cl₁₀H₂S) was synthesized according to Della-Negra et al. (2020). The purity of all synthesized TPs was best assessed using an NMR-based titration protocol (Supplementary Text). Chlordecol (C₁₀Cl₁₀H₂O, purity 98 %) was supplied by Azur Isotopes. In addition, ¹³C₁₀-chlordecone (at 100 µg.mL⁻¹ in nonane, purity >99 %, LGC), pentachlorobenzene (PeCB) (purity >96 %, Sigma) and indane-4-carboxylic acid (2,3-dihydro-1*H*-indene-4-carboxylic acid; purity >95 %, Enamine) were used as internal standards for CLD/hydroCLDs/CLDOH/F1, polychloroindenes, and polychloroindenecarboxylic acids, respectively. Working solutions were prepared in acetone except for F1 which was prepared in ethanol. Both solvents were supplied by VWR (purity >99.9 %). Additional chemicals used are described in the supplementary text section.

4.2 Preparation and incubation of chlordecone-supplemented digestates

Different conditions for AD were tested in batch mode: (i) a digestate of animal origin, obtained from a 10L Continuous Stirred-Tank Reactor (CSTR), from the experimental farm of the ENSAIA, operating under mesophilic conditions (wet system) at steady state for several months, was used for the incu-

bation under mesophilic conditions; (ii) a digestate from plant origin, obtained from the 1350 m³ industrial digester of the continuous thermophilic Methavos unit of Sarreguemines (dry system), was used for the incubation under thermophilic conditions (Tableau S2.1).

Eighty-four serum bottle reactors were labeled according to the corresponding incubation conditions (mesophilic or thermophilic), the presence or absence of CLD, and the associated incubation time (i.e., 0 days for immediate stopping of the bottles, x for x days of incubation) (Figure S2.1). Digestates were thoroughly shaken before filling the bottles. Each bottle was filled with 100 g of the associated digestate: mesophilic bottles were filled with liquid digestate (density of 1.01; 11 % TS, out of which 63 % VS) sampled from a CSTR operating under mesophilic conditions and fed with livestock effluents, while thermophilic bottles were filled with liquid digestate (density of 1.05; 18.5 % TS, out of which 60 % VS) collected from a thermophilic industrial digester fed with plant residues. One milliliter of aqueous solutions of Cobalt(II) chloride and glucose were added into each bottle to final concentrations of 5 mg.L⁻¹ and 1 g.L⁻¹, respectively. One milliliter of an ethanolic solution of CLD (3.6 mg.mL⁻¹) was added to reach a final concentration of 20 ± 0.5 mg.L⁻¹ (Supplementary Text) in all the bottles, equivalent to 0.17 g.kg⁻¹ TS in mesophilic and 0.11 g.kg⁻¹ TS in thermophilic conditions, except in negative controls. The same volume of ethanol (1 mL) was introduced into the negative control bottles. An additional 77 g of the digestates was added to all bottles that were then stoppered and thoroughly shaken to homogenize their contents. All bottles, except the ones immediately sacrificed for the initial incubation time (0 days), were incubated in the dark at 37.5 °C (mesophilic conditions) or 55 °C (thermophilic conditions) in static Memmert incubators-thermostats. At the designated incubation time (0, 5, 20, or 40 days), the three biological replicates (under each condition) were sacrificed and stored in the dark at -20 °C for subsequent analyses.

4.3 QuEChERS extraction of chlordecone and its transformation products from the digestate

A dedicated degradation experiment of CLD supplemented at 20 mg.L⁻¹ was performed for 40 days according to the protocol detailed in section 2.2 to provide digestate samples containing both CLD and the TPs formed during AD. Several parameters were studied, i.e., nature of extraction solvent, volume of digestate sample, pH, and salt effect. All details are available in the Supplementary Information (Supporting text, Figure S2.2 and Figure S2.3, Tableau S2.5).

The final QuEChERS protocol adapted to the digestate matrix is the following: 1 mL of digestate (precisely weighed) was placed in a 10-mL vial. 15 µL of ¹³C₁₀-CLD at 100 µg.mL⁻¹ in nonane (internal standard for CLD, hydroCLDs, CLDOH and CLDSH; final concentration: 1.36 mg.L⁻¹, Figure S2.7 and Figure

S2.10), 11 μL of pentachlorobenzene (PeCB, internal standard for B1 and analogous TPs; final concentration: 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Figure S2.8) and 11 μL of indane-4-carboxylic acid (internal standard for TPs C1/C2 and C3/C4; final concentration: 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; Figure S2.9), both at 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ in acetone, were added to the digestate. The vial was vortexed and kept under agitation (775 rpm, Mini-Orbital Shaker, Bellco) for 1 h at room temperature. The digestate was placed in a 50-mL centrifuge tube. 9 mL of ultrapure water were added, followed by 1.5 mL of acetone and 8.5 mL of hexane with a one-minute stirring step between each addition. After addition of QuEChERS salts (10 g of MgSO_4 , 1 g of NaCl, 1.8 g of sodium citrate dihydrate), HCl (6 M) was added to adjust the aqueous phase to pH 3. The mixture was stirred for 1 min and centrifuged for 5 min at 4000 rpm. The supernatant was then concentrated under a nitrogen stream to 600 μL and further divided into several aliquots. One aliquot of 150 μL was used for immediate GC-MS analysis (CLD, A1, A2, B1, B2, B3/B4, CLDOH, and F1). The quantification of CLD, hydroCLDs, C1/C2, and C3/C4 using LC-HRMS was performed with a second aliquot of 150 μL , evaporated and stored at -20 $^\circ\text{C}$ before analysis.

4.4 GC-MS analysis

The GC-MS extract was analyzed using a Thermo Fisher Focus GC coupled to a single-quadrupole mass spectrometer (Thermo Fisher DSQ II). The chromatographic separation was performed using a nonpolar 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm DB-5MS column (Agilent J&W), with helium as the carrier gas. The oven temperature was programmed as follows: 125 $^\circ\text{C}$ held for 0.5 min, increased to 180 $^\circ\text{C}$ at a rate of 50 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ and then to 280 $^\circ\text{C}$ at 8 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (0.5 min hold). The mass spectrometer was operated in electron ionization positive mode (EI) at 70 eV. Ion source and transfer line were maintained at 220 $^\circ\text{C}$ and 280 $^\circ\text{C}$, respectively.

For full scan (FS) analysis, 2 μL of extract were injected in splitless mode. Mass spectrum was acquired over a range of m/z 50-600. For single ion monitoring analysis (SIM), 1 μL of extract was injected in split mode with a ratio of 1:5. For each compound analyzed (CLD, TPs and internal standards), two ions were monitored, one as a quantifying ion and one as a qualifying ion (Tableau S2.2). For thermophilic conditions, m/z 274 for CLD and m/z 279 for $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD were monitored instead of m/z 272 and m/z 277 for mesophilic conditions due to matrix interferences observed at m/z 272. Each extract was analyzed once in FS mode, followed by three additional SIM acquisitions.

4.5 LC-HRMS analysis

The dry extract was re-dissolved in 250 μL of NH_4OAc buffer (10 mM, pH 7 adjusted with NH_4OH 1 M):MeCN (20/80, v/v). The extract was filtered on 0.22 μm filters (Millex® -GV, Merck). Analyses were performed on a Dionex Ultimate 3000 LC system coupled to an LTQ-Orbitrap Elite Mass Spectrometer

(Thermo Fisher Scientific). Chromatographic separation was carried out at 30 °C with a Kinetex C18 column (100 mm x 2.1 mm, 1.7 µm) (Phenomenex). NH₄OAc buffer (10 mM; pH 7 adjusted with NH₄OH 1M) was used as solvent A and MeCN as solvent B. Analyses were performed under a solvent gradient and a flow rate gradient. The flow started at 0.2 mL.min⁻¹ with 20 % of B and conditions were maintained for 0.5 min. The flow was drastically decreased to 0.05 mL.min⁻¹ (rate at 0.33 mL.min⁻²). A dual gradient of flow rate and eluent was then applied to reach 0.5 mL.min⁻¹ and 100 % of solvent B at 8 min (rate at 0.06 mL.min⁻² and 10.7 °C.min⁻¹). The system was held for 1.5 min and returned to the initial parameters in 1.5 min (rate at 0.2 mL.min⁻² and 53.3 °C.min⁻¹). Equilibration of the system was maintained for 0.2 min prior to subsequent analysis.

The mass spectrometer was equipped with an electrospray ionization (ESI) operated in negative mode. MS parameters were set as follows: source and capillary temperatures at 275 °C, ion spray voltage at -4 kV, and sheath, auxiliary, and sweep gas flows at 60, 44, and 0 (arbitrary unit), respectively. The mass spectrum was acquired over a range of *m/z* 100-700 with a resolution of 30,000. For each compound analyzed (CLD, TPs, and internal standards), two ions were extracted from the total ion chromatogram (TIC), one as a quantifying ion and one as a qualifying ion, except for indane-4-carboxylic acid with just one ion (Tableau S2.3). Three successive injections were performed for each analytical sample, followed by three blank injections (MeCN).

4.6 Quantification procedure and evaluation of its performances

The choice of internal standards for CLD and its TPs is detailed in SI (Supporting text, Figure S2.7, Figure S2.8, Figure S2.9 and Figure S2.10). For each incubation time (0, 5, 20, and 40 days), digestates without CLD were sacrificed simultaneously with the digestate samples to be analyzed to provide the corresponding blank matrices. Supplementation of these blank matrices at five levels of CLD (0, 1, 5, 10, and 20 mg.L⁻¹) and B1 (0, 0.14, 0.41, 1.1, and 4.4 mg.L⁻¹), followed by QuEChERS extraction and analysis, enabled us to establish calibration curves for CLD and B1 at each incubation time (Examples in Figure S2.11 and Figure S2.12). These calibration curves were obtained from duplicate extractions that were analyzed by bracketing samples.

Semi-quantification of A1 (in GC-MS and in LC-HRMS) as well as CLDOH and F1 (in GC-MS only) were done using CLD calibration curves. For these three TPs, dedicated adjustment coefficients were estimated (for details, see Supporting text, Figure S2.7 and Figure S2.10). Adjustment coefficients were used to take into account the difference in extraction efficiency and instrumental response between each TP and CLD used for the calibration curve. The same method was applied for the GC-MS semi-quantification of B3/B4 and B2 using B1 calibration curve (for details, see Supporting text and Figure S2.8). As previously indicated (Chapitre 2.4.4), two separate ions, namely *m/z* 272 and 274, were selected for GC-

MS monitoring of CLD in mesophilic and thermophilic conditions, respectively. As a result, distinct adjustment coefficients had to be applied for semi-quantifying A1, CLDOH and F1 in mesophilic and thermophilic matrices (Supporting text, Figure S2.7 and Figure S2.10). The limited amount of C1/C2 and C3/C4 prevented us from establishing calibration curves for these TPs at each incubation time. Calibration curves with the internal standard were established once for C1/C2 and C3/C4. Briefly, thermophilic digestates from 0 days were supplemented at six levels (from 0 to 4 mg.L⁻¹), extracted according to the developed QuEChERS protocol, and analyzed by LC-HRMS (Figure S2.9-C). Calibration curves were then used to estimate C1/C2 and C3/C4 concentrations in all digestate samples.

Recovery yields and accuracies for CLD, A1, B1, B2, B3/B4, C1/C2, C3/C4, CLDOH and F1 were evaluated (Tableau S2.6 and Tableau S2.7). Calibration curves were constructed using surrogated digestates spiked with internal standards and extracted as samples. Matrix effects and recoveries were normalized by internal standards. Limits of detection (LOD) were estimated using a signal-to-noise ratio of three (Tableau S2.8). Limits of quantification (LOQ) were set at three times LOD.

5. Results and Discussion

5.1 Selection of targeted transformation products

The known transformations products (TPs), resulting from microbiological degradation, metabolic pathways, photochemical degradation, and chemical reduction of CLD, have been classified into seven families: hydrochlordecones (family A, C₁₀Cl_{10-n}O₂H_{2+n}, 1 ≤ n ≤ 5), polychloroindenes (family B, C₉Cl_{6-n}H_{2+n}, 1 ≤ n ≤ 3), polychloroindene-carboxylic acids (family C, C₁₀Cl_{5-n}H_{3+n}O₂, 1 ≤ n ≤ 5), methyl polychloroindene-carboxylates (family D, C₁₁Cl_{5-n}H_{5+n}O₂, 1 ≤ n ≤ 2), ethyl polychloroindene-carboxylates (family E, C₁₂Cl_{5-n}H_{7+n}O₂, 1 ≤ n ≤ 2), chlordecthiol and CLDOH and their respective derivatives (families F and G, respectively) (Figure 2.1) (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Fariss et al., 1980; Hellal et al., 2021; Lomheim et al., 2020, 2021). Out of these TPs, only A1, A2, A3, B1, B2, B3/B4, C1/C2, C3/C4, D1/D2, D3/D4, F1, F2, F3, F5, and CLDOH have been previously obtained, albeit generally in low yields and for which analytical standards could thus be synthesized following published procedures (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Wilson & Zehr, 1979). Among these numerous compounds, we have selected a set of 10 TPs representative of each family and expected to be formed if CLD were degraded in our conditions (Tableau S2.20 and Tableau S2.21).

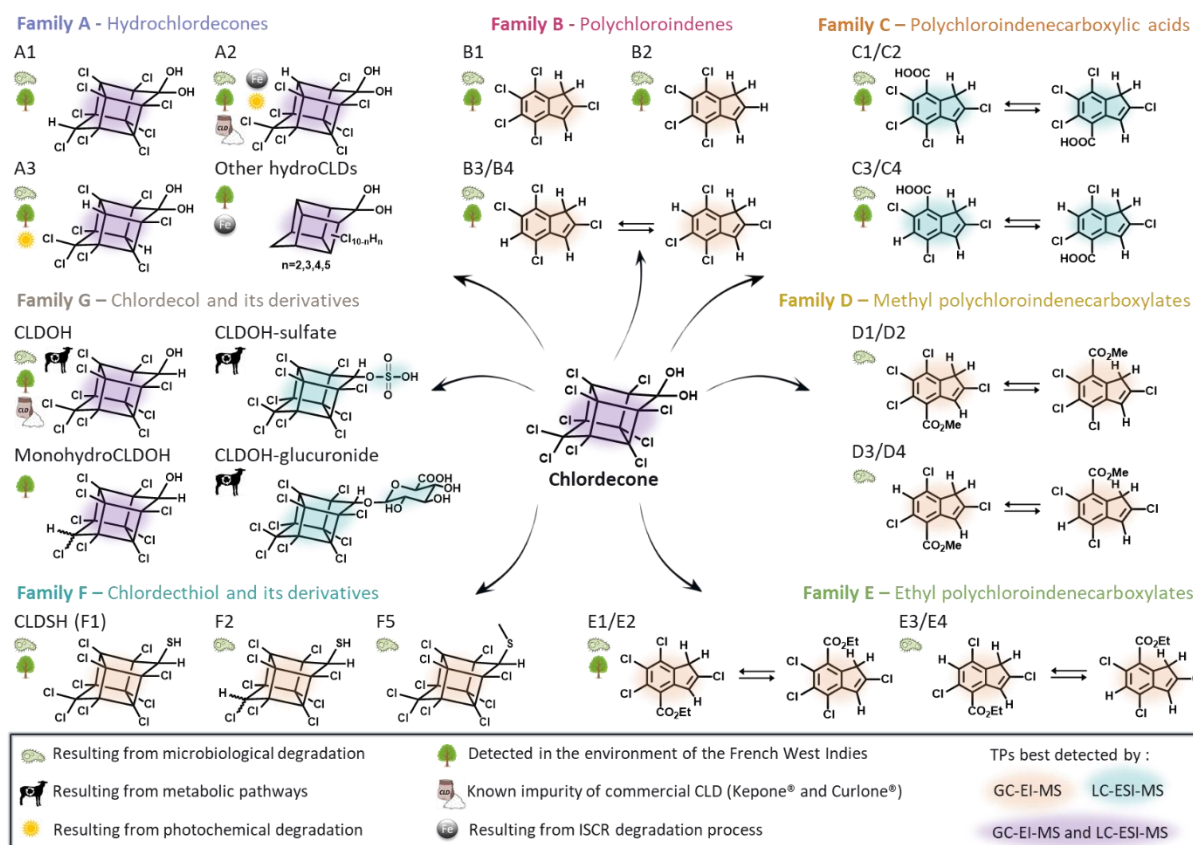


Figure 2.1. Overview of the seven families of chlordecone's transformation products. For clarity, only higher chlorinated congeners are displayed. For a complete list, refer to the following references: Fariss et al., 1980; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Lomheim et al., 2020, 2021; Hellal et al., 2021.

5.2 Development of a QuEChERS protocol suited to the digestate matrix

To take into account the possible aging of CLD and its TPs in the complex digestate matrix, particularly at the elevated temperature of the thermophilic conditions (55 °C) and long duration (40 days), a preliminary degradation experiment was set up. All the analytical developments were performed using samples from this preliminary experiment (Supporting text, Figure S2.2 and Figure S2.3, Tableau S2.5). Four compounds easily detected by GC-MS (CLD, A1, B1, B3/B4) were chosen to optimize the extraction parameters. The final QuEChERS method requires 1 mL of digestate and 10 mL of hexane:acetone (85/15, v/v). This mixture of solvents, previously used for CLD extractions (Devault et al., 2018; Lomheim et al., 2020), turned out to be more efficient and led to more reproducible results for the digestate matrix than acetonitrile, which is typically employed in QuEChERS protocols (Kim et al., 2019; Santana-Mayor et al., 2019)(Tableau S2.5). The final protocol optimized for digestate uses a higher amount of magnesium sulfate (10 g vs. 4 g) and slightly more acidic conditions (pH 3 vs. pH 4.5-5) compared to the QuEChERS protocol reported for feces matrix (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018).

The efficiency of the developed QuEChERS protocol was determined by spiking digestate samples with CLD and the main TPs from families A, B, C, F, and G. All LODs were under 100 µg.L⁻¹ (Tableau

S2.8); recovery rates were higher than or equal to: 60 % for CLD, monohydroCLD (A1, A2), and CLDOH, 25 % for CLDSH, 47 % for family B and 47 % for family C (Tableau S2.6). Calibration curves were established in the initial matrix, *i.e.* digestates not spiked with CLD and sacrificed at each incubation period as was done for samples: compounds (CLD and B1) and internal standards ($^{13}\text{C}_{10}$ -CLD, PeCB, and indane-4-carboxylic acid) were added to the matrix and after 1 h of stirring, extracted on the same day as samples. Consequently, recoveries and matrix effects were corrected by using the same extraction procedure for calibration curves and by adding dedicated internal standards for digestate analyses, *i.e.* $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD for CLD, hydroCLDs, CLDOH, and CLDSH, PeCB for Bi ($i = 1-4$), indane-4-carboxylic acid for Cj ($j = 1-4$). The present QuEChERS method thus meets, for the first time, the analytical requirements for the satisfactory monitoring of CLD and its main TPs in a bioremediation process, *i.e.*, AD. Indeed, LODs for the 8 TPs ensure their detection for a conversion of at least 1 % from CLD.

In previous work on biotic and abiotic CLD transformations, we identified several TPs from families D and E (Chevallier *et al.*, 2019). Unfortunately, the limited access to these compounds for spiking prevented a complete investigation of the performance of our QuEChERS protocol for these families. Recovery efficiencies higher than 60 % for D1/D2 and D3/D4 were nevertheless estimated using available aliquots of these compounds, which imply that such TPs could be detected if they were formed during AD. The structural similarity between families D and E led us to assume that TPs from family E, if present, would also be detected.

In subsequent studies, we identified through spectral data (GC-MS, LC-HRMS, or both), a number of lower-chlorinated congeners belonging to families A, B, C, F, and G (Chaussonnerie *et al.*, 2016; Chevallier *et al.*, 2019; Della-Negra *et al.*, 2020; Hellal *et al.*, 2021). Recently, in the course of their work on the microbial degradation of CLD, Lomheim and colleagues reported on a series of highly dechlorinated TPs from family C including a fully dechlorinated indenecarboxylic acid (Lomheim *et al.*, 2021). Assuming the extraction performances in the digestate matrix are similar to their parent TPs, a suspect screening for lower chlorinated TPs (Tableau S2.20 and Tableau S2.21) was performed in the current study using the full scan acquisitions from GC-MS and LC-HRMS analyses.

5.3 Anaerobic digestion and chlordecone degradation

5.3.1 Monitoring of pH, redox potential, and biogas production during anaerobic digestion

The pH and redox potential were monitored between 0 and 40 days for both mesophilic and thermophilic conditions, supplemented or not, with CLD (see Supporting text for detailed protocols). Results showed that the presence of CLD did not alter pH and redox potential of the digestate (Figure S2.5 and Figure S2.6). Except at the initial point (0 days) redox potential was systematically lower than -

350 ± 10 mV. Thus, conditions were sufficiently reducing to be compatible with CLD degradation (Hellal et al., 2021; Mouvet et al., 2017) and, more generally, with dechlorination processes reported for organochlorines (Sethunathan et al., 1983; Stuart et al., 1999; Bertin et al., 2007).

Several persistent organochlorine compounds have been described as inhibitors of methanogenic activity at varying concentrations. For instance, concentrations in the range of 0.5-6 mg.L⁻¹ of PCBs decreased methane production by 70-88 % (de Lima e Silva et al., 2016). Lian and colleagues (2018) demonstrated that addition exceeding 150 mg.L⁻¹ of hexachlorocyclohexane could affect biogas production by around 50 %. Biogas monitoring of digestates supplemented (or not) with CLD allowed us to determine whether CLD at 20 mg.L⁻¹ had a negative effect on the methanogenic activity (see Supporting text for detailed protocol). Absence of statistically significant differences in biogas production (t-test p-value > 0.05) between CLD-supplemented and not supplemented bottles (negative control digestates) under both mesophilic and thermophilic conditions indicates that CLD concentrations as high as 20 mg.L⁻¹ did not alter biogas production (Figure 2.2, Tableau S2.10). Cumulative production of biogas was higher under thermophilic conditions (100 and 55 mL.g⁻¹ VS after 40 days, respectively). In this case, it followed an exponential evolution, contrary to the mesophilic conditions where a sigmoidal trend was observed (Figure S2.17 and Figure S2.18). However, methane content was slightly higher in the mesophilic bottles (around 62 %, compared to 51 % in thermophilic bottles). Similarly to the overall biogas production, methane content was not altered by the presence of CLD at 20 mg.L⁻¹. The variation in biogas production between the mesophilic and thermophilic digestates could be explained by the differences in the operating conditions of the two reactors from which they were sampled (a 10 L-CSTR for mesophilic conditions and an industrial reactor for thermophilic conditions). Therefore, differences in HRT, nature and load of organic substrate, as well as temperature differences are among the main contributors to the dissimilar biogas yields observed between the two digestates in our experiment. The naturally contaminated organic wastes in FWI contain much lower concentrations of CLD. For instance, in the case of intravenously contaminated ewes, concentration of CLD in the feces reached a maximum of 600 µg.kg⁻¹ FM after administering a dose of CLD simulating a high level of natural exposure (Saint-Hilaire et al., 2021). Thus, biomass naturally contaminated with CLD should not have any inhibitory effect on the methanogenic activity of the AD process.

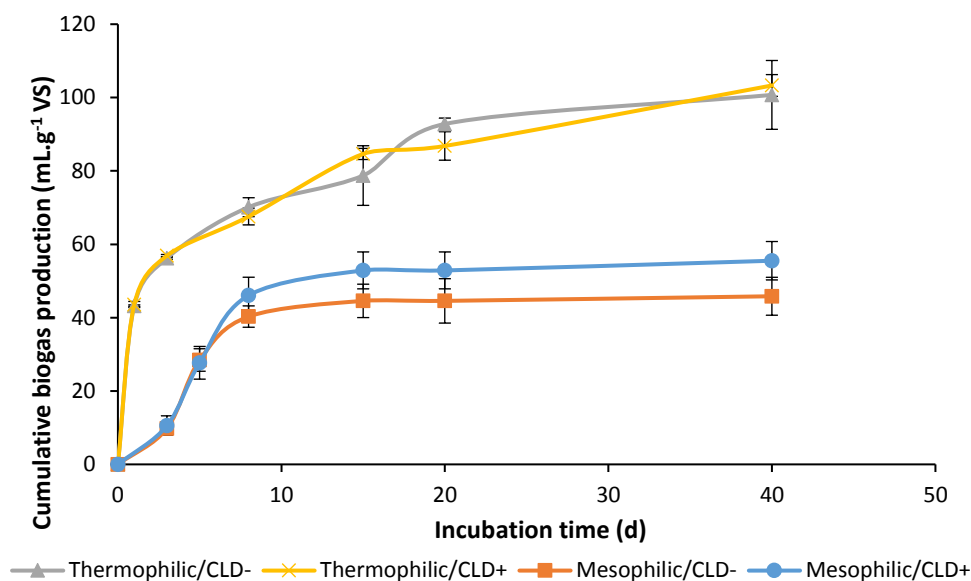


Figure 2.2. Monitoring of the average biogas production (mL.g⁻¹VS) in bottles incubated with (CLD+) and without chlordecone (CLD-) under both mesophilic and thermophilic conditions, after 40 days of incubation. The error bars represent the standard errors of the calculated means.

5.3.2 Monitoring of chlordecone under mesophilic and thermophilic conditions

Under mesophilic and thermophilic conditions (37.5 °C, and 55 °C, respectively), CLD concentrations were monitored by extracting the bottles sacrificed at 0, 5, 20, and 40 days of incubation using the optimized QuEChERS protocol. Analyses were performed using both GC-MS and LC-HRMS instrumentations. Since LC-HRMS is more sensitive than GC-MS (LOD = 9.4 µg.L⁻¹ in LC-HRMS vs. LOD = 17.4 µg.L⁻¹ in GC-MS) and is not subject to interference from isobaric ions, we decided to focus hereafter on CLD concentrations obtained from LC-HRMS data only (Figure 2.3). It is noteworthy that results from GC-MS analyses (Figure S2.21 and Figure S2.22) were in total agreement with LC-HRMS values. Under mesophilic and thermophilic conditions, the average concentrations of CLD at 0 days were estimated at 18.3 ± 1.1 mg.L⁻¹ and 16.3 ± 0.5 mg.L⁻¹, respectively. These values are significantly lower than the experimental concentration of 20 ± 0.5 mg.L⁻¹ set for each bottle (refer to Materials and methods section). The estimated errors and the satisfactory accuracy determined for the QuEChERS protocol (Tableau S2.7) could not solely account for such a difference. Since GC-MS data gave similar concentrations (Figure S2.21 and Figure S2.22), we ruled out an instrumental bias and we suspected the presence of a non-extractable CLD fraction possibly formed immediately after CLD addition or during the freeze storage period. As Fariss et al. observed a significant increase in CLD concentration in bile after an intense acidic treatment (Fariss et al., 1982), we decided to perform a similar acidification to bottles sacrificed at 0 days before applying the QuEChERS protocol (Supporting text). Results showed no difference for the digestate samples with or without acid treatment (Tableau S2.19). At that point, we hypothesized a possible immediate

partial degradation of CLD following its addition and before complete freezing. However, without clear evidence, we resolved to calculate all reduction rates based on measured CLD concentrations at T0 to avoid their overestimation.

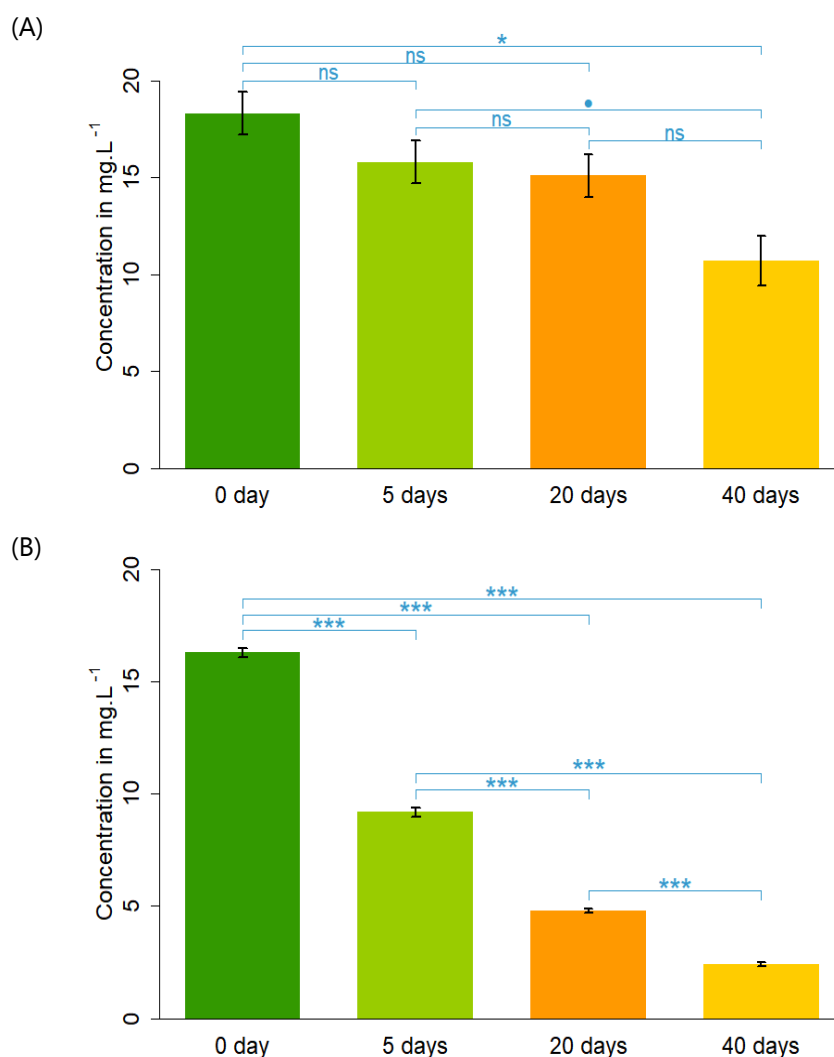


Figure 2.3. Evolution of CLD concentrations under mesophilic conditions (37.5°C) (A) and under thermophilic conditions (B) at different incubation times in LC-HRMS; error bars represent standard errors of the calculated means (n=6 composed of 3 biological replicates, each divided into two replicates further extracted and analyzed); blue intervals represent the comparison between two times; • = 0.1 < Tukey's HSD p-value < 0.05; * = 0.05 < p-value < 0.001; ** = 0.001 < p-value < 0.0001; *** = p-value < 0.0001; ns = not significant. For detailed values see Table S17 and Table S18.

Next was considered the evolution of CLD concentrations over time. As can be seen in Figure 2.3, CLD concentration decreases during the four sacrificed periods (0, 5, 20, and 40 days) under both mesophilic and thermophilic conditions, reaching final concentrations of $10.7 \pm 1.6 \text{ mg.L}^{-1}$ and $2.4 \pm 0.3 \text{ mg.L}^{-1}$, respectively. Statistical analyses were performed to compare concentrations between incubation times (see Supporting methods). Although a sharper decrease in CLD was observed under thermophilic conditions, the ANOVA test unambiguously demonstrated the significance of CLD decrease at both temperatures. Notably, in the case of thermophilic conditions, ANOVA test showed a highly significant effect

of time on CLD decrease (p -value = 2.00×10^{-16}) confirmed by a Tukey's test that demonstrated a significant difference between each incubation time (Tableau S2.11 to Tableau S2.16). For mesophilic conditions, decrease in CLD concentrations was estimated to be significant only between 0 and 40 incubation days (Tukey's HSD p -value = 0.002).

Removal efficiencies for CLD were calculated from the measured T0 experimental values. A substantial reduction of $85 \pm 5\%$ was observed under thermophilic conditions, while a more moderate decrease of $42 \pm 8\%$ was noted under mesophilic conditions, both after 40 days. We wondered whether these results followed the same trend as the evolution of biogas production, which was also higher at 55 °C. Under thermophilic conditions, CLD removal could easily be modeled using an apparent first-order kinetic (half-life of 15.13 days), while CLD elimination under mesophilic conditions could be rationalized using both zero- and first-order rate kinetics (with half-lives of 46.5 and 55.01 days, respectively) (Figure S2.14 to Figure S2.16). Even though an interrelation between the evolution of biogas and that of CLD removal could be concluded under thermophilic conditions as both followed exponential patterns, their half-reaction times clearly differ ($t_{1/2, \text{biogas}} = 2$ days; $t_{1/2, \text{CLD}} = 15.13$ days). The evolution of CLD removal under mesophilic conditions could not be correlated with the sigmoidal pattern of biogas production. The removal of organochlorines, and more generally of recalcitrant organic compounds, is not systematically favored at higher temperatures (see Supporting text). Indeed, it is difficult to attribute the higher removal efficiency observed under thermophilic conditions to the single effect of the temperature increase, given that the two digestates originated from two different digesters fed with distinct organic materials (one from plant and the other from animal origin) and therefore have considerably different chemical and microbiological compositions (Lamolinara et al., 2022; Ziganshin et al., 2013). Moreover, the two digesters from which the liquid digestates were sampled were running under distinctive operating conditions, such as HRT, temperature, organic load, and wet/dry systems (different TS values, Tableau S2.1).

Although these differences make it difficult to attribute the efficiency of CLD removal to one or several specific factors, a comparison between the overall efficiency of the two processes investigated remains possible. In fact, the removal efficiency is a question of synergy between organic pollutant type and concentration, feed and inoculum characteristics, and operating temperature, among other operational conditions. Since in our experiment every inoculum was performing at its optimal temperature, we concluded that the inoculum from plant origins working at thermophilic conditions led to a more efficient removal of CLD than the inoculum from animal origins working at mesophilic conditions.

5.3.3 Monitoring of the transformation products under mesophilic and thermophilic conditions

CLD is well known to strongly adsorb onto organic matter leading to a possible non-extractible fraction (Cabidoche et al., 2009; Fernández-Bayo et al., 2013). Hence, the removal of CLD in AD needs to be confirmed by the detection of transformation products, intermediates and/or end-products, of biodegradation pathways.

In parallel with CLD monitoring, the emergence of TPs was examined at the same incubation times (0, 5, 20, and 40 days). The developed QuEChERS protocol enabled the detection of A1, B1, B2, B3/B4, C1/C2, C3/C4, CLDOH, and F1, for a conversion of at least 1 % from CLD. We assumed that A2, if formed significantly, would be detected since its recovery efficiency was similar to that of CLD and A1 (Tableau S2.6).

Among the nine targeted TPs, six were found, B2 only being detected at T40 under thermophilic conditions (Figure 2.4). In addition, suspect screening enabled the detection of two dihydroCLDs different from A3, while A2, CLDOH, and F1 were never detected, nor were any TPs from families D and E (Figure S2.13). Except for B1 in mesophilic conditions, a general trend was observed: the concentrations of each TP systematically increased with incubation time. The ANOVA test revealed a highly significant effect of time ($p < 0.001$) on the increase of all the quantified TPs. In parallel, the comparison of means test (Tukey's HSD test) allowed a discrimination between each different time for the quantified TPs.

5.3.3.1 Under mesophilic conditions

Following its first detection at T5, A1 increased to a final concentration of $1.3 \pm 0.2 \text{ mg.L}^{-1}$ after 40 incubation days (Figure 2.4-A). Two dihydroCLDs, different from 2,8-dihydroCLD (A3), were present at trace levels at 20 to 40 days ($< \text{LOQ}$). B1 showed an irregular evolution including a non-negligible concentration ($0.76 \pm 0.10 \text{ mg.L}^{-1}$) at day 0. We discussed several possible explanations in detail in the Supporting text. At best, the fate of B1 under methanogenic conditions should be investigated in a dedicated AD experiment. B3/B4 were detected in trace levels at day 5, and their concentrations increased up to $0.063 \pm 0.007 \text{ mg.L}^{-1}$ after 40 days. Polychloroindene-carboxylic acids, C1/C2 and C3/C4, were also detected and quantified. These compounds were present from day 20, and their concentrations increased continuously until 40 days to reach $0.35 \pm 0.05 \text{ mg.L}^{-1}$ and $0.26 \pm 0.03 \text{ mg.L}^{-1}$ for C1/C2 and C3/C4, respectively.

Thus, the decrease in CLD concentration under mesophilic conditions was coupled with the appearance of several TPs belonging to three families: hydroCLDs (A1 and dihydroCLDs), polychloroindenes (B1 and B3/B4), and polychloroindene-carboxylic acids (C1/C2 and C3/C4). These results suggest moderate CLD degradation in AD under mesophilic conditions (37.5 °C).

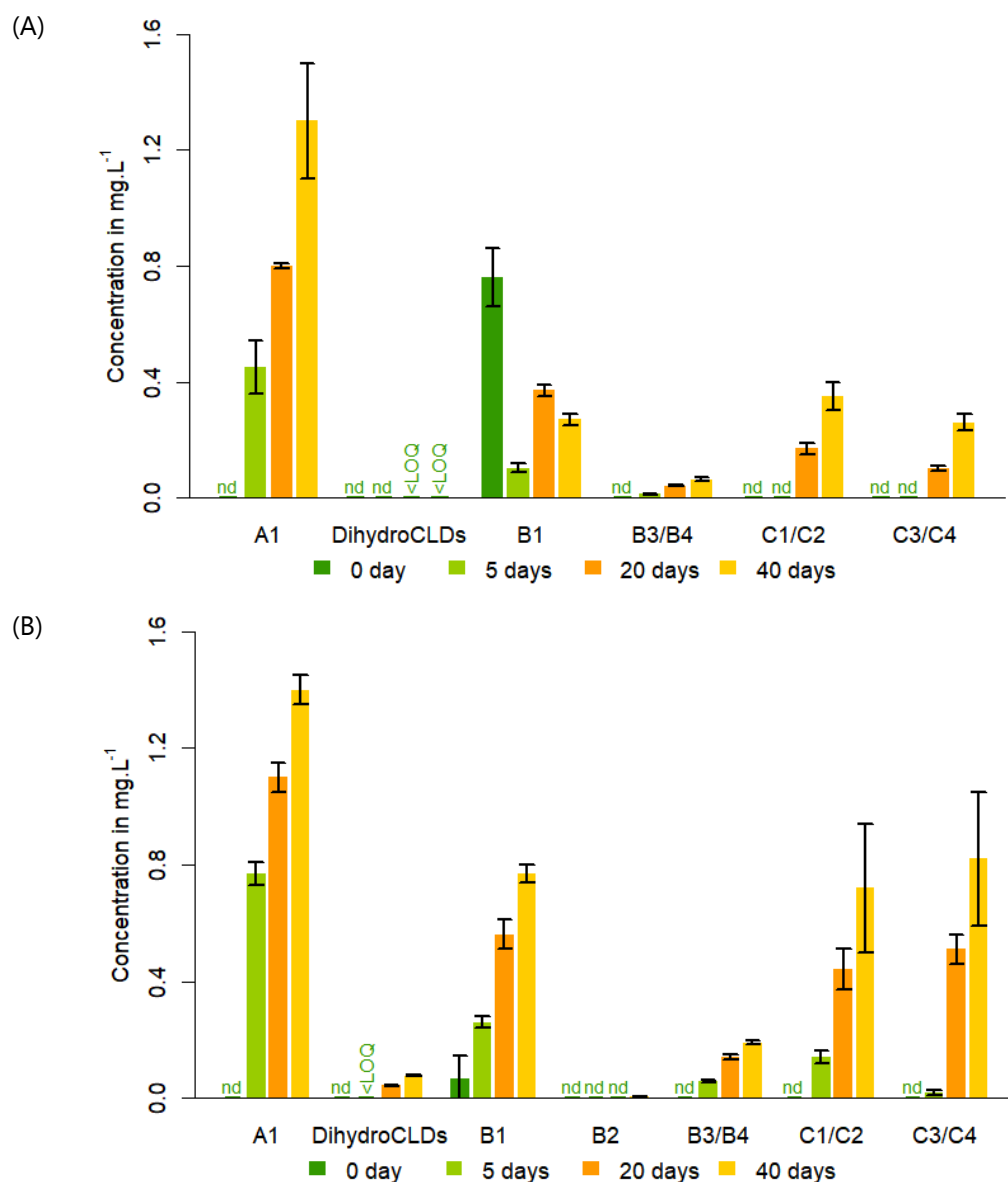


Figure 2.4 Monitoring of several transformation products of CLD under (A) mesophilic and (B) thermophilic conditions: A1, dihydroCLDs, C1/C2, and C3/C4 analyzed in LC-HRMS and B1, B2 (only detected for thermophilic), and B3/B4 analyzed in GC-MS. The error bars refer to standard errors (n=6). A2, CLDOH, and F1 were below LOD and were not shown here. For detailed values see Table S17 and Table S18.

5.3.3.2 Under thermophilic conditions

10-monohydroCLD (A1) and two dihydroCLDs, different from 2,8-dihydroCLD (A3), reached final concentrations of 1.4 ± 0.1 mg.L⁻¹ and 0.071 ± 0.006 mg.L⁻¹ (sum of both dihydroCLDs), respectively.

Pentachloroindene B1 was the only TP detected at 0 days with a concentration of $0.07 \pm 0.02 \text{ mg.L}^{-1}$; its concentration increased to $0.74 \pm 0.08 \text{ mg.L}^{-1}$ at 40 days. Simultaneously, tetrachloroindenes B3/B4 appeared at day 5 in trace amounts ($0.054 \pm 0.004 \text{ mg.L}^{-1}$) and increased to $0.18 \pm 0.01 \text{ mg.L}^{-1}$ at 40 days. Additionally, tetrachloroindenecarboxylic acids C1/C2 and trichloroindenecarboxylic acids C3/C4 reached final concentrations of $0.69 \pm 0.22 \text{ mg.L}^{-1}$ and $0.80 \pm 0.23 \text{ mg.L}^{-1}$, respectively. Furthermore, B2 was detected after 40 days, albeit at levels lower than the limit of quantification (Figure 2.4-B).

With the decrease in CLD concentrations observed previously, the simultaneous occurrence of several TPs confirmed the substantial degradation of CLD under thermophilic conditions.

5.3.4 Possible transformation pathways

The presence and absence of TPs are of particular interest when investigating CLD transformation pathways under AD. So far, four distinct pathways have been reported: reductive dechlorination, reductive ring-opening, reductive sulfidation, and the mammalian metabolic pathway.

Detection of A1 and dihydroCLDs demonstrates the occurrence of reductive dechlorination processes like the ones previously observed in microbiological anaerobic degradations of CLD (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019; Lomheim et al., 2020, 2021). These processes have been observed under AD for other persistent organochlorine pollutants like PCBs (Bertin et al., 2011; Patureau & Trably, 2006; Siebielska & Sidełko, 2015; Tartakovsky et al., 2000), HCB (Fathepure et al., 1988) and mirex (Andrade et al., 1975).

In our experimental conditions, CLD also underwent a reductive ring-opening pathway, i.e., opening of the perchlorinated bishomocubane structure with the loss of several chlorine atoms, leading to the formation of families B and C. Such a pathway has been related to the action of reduced corrinoids, either biosynthesized by bacteria and archaea (Barbance et al., 2020; Jablonski et al., 1996) or supplemented in biomimetic chemical reactions (Chevallier et al., 2019; Schrauzer & Katz, 1978). In our experimental setup with 40 incubation days, maximum removal of 6 and 7 chlorine atoms was observed for families B and C, respectively. Although a higher degree of dechlorination was reached in other anaerobic liquid microcosms, the higher incubation duration (from 8 months to <9 years) could explain these results (Lomheim et al., 2020, 2021).

H₂S, among other volatile compounds, is known to be produced during AD processes. Therefore, reductive sulfidation could take place, leading to the formation of sulfur-containing TPs (Della-Negra et al., 2020). With our analytical protocol, no TPs from family F were detected. Even if produced in a low amount, lower than the detection limit of $89.3 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, F1 would account for <0.5 % of the transformed CLD.

Chlordecol, the initial metabolite of the solely known enzymatic pathway (Fariss et al., 1980), was not detected in our study. This was expected since none of the microbiological anaerobic degradation studies have so far reported its presence (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Hellal et al., 2021; Jablonski et al., 1996; Lomheim et al., 2020, 2021).

Families D and E previously detected in a series of anaerobic microcosms (Chevallier et al., 2019) are not yet linked to any transformation pathway. Their structural similarities with family C, i.e., methylated and ethylated forms of indenecarboxylic acids, C1/C2, C3/C4, led us to presume a possible methylation or ethylation step following the reductive ring-opening pathway. Even though methyl transfer might occur during AD, as pointed out by Hellal et al. (2021), TPs from families D and E were not detected in our experiment.

The detection of TPs revealed that two out of four distinct transformation pathways occurred in our AD experiments. These transformations may have resulted from a combination of biotic and abiotic processes. No reductive dehalogenase genes were identified in the genomes and metagenomes of the isolated strains and microbial consortia proven to induce CLD transformation (Chaussonnerie et al., 2016; Della-Negra et al., 2020). Indeed, Jablonski et al. (1996) and Barbance et al. (2020) observed that cofactors (factor III from the CO-dehydrogenase enzyme complex, factor F₄₃₀ as well as several corrinoids including vitamin B₁₂) biosynthesized by the micro-organisms and further reduced can be responsible on their own for CLD transformations, suggesting the existence of cometabolic pathways.

5.4 Fate of chlordecone in anaerobic digestion

Several TPs were detected, at significant levels, concomitantly with CLD consumption. For instance, the estimated concentration of CLD at T0 was lower, for both mesophilic and thermophilic conditions, than the expected concentrations of CLD initially introduced. We wondered whether including TPs concentrations would complete the mass balance (Figure 2.5).

In mesophilic conditions, mass balance was complete at 0 days; the sum of CLD and B1 concentrations matched the calculated concentration of CLD initially added ($19.4 \pm 0.5 \text{ mg.L}^{-1}$, $38.1 \pm 1.0 \mu\text{mol.L}^{-1}$). For the other incubation times (5, 20, and 40 days), at least 70 % of the initially added concentration could be rationalized.

For thermophilic conditions, the sum of the concentrations of CLD and its TPs did not, for any incubation time, reach the concentration of CLD initially introduced. Nevertheless, quantification of CLD and its seven main TPs explained 40 to 85 % of the amount added to the digestate. One cannot exclude the fact that a part of CLD could have been irreversibly adsorbed onto the organic matter. However, after 40 incubation days, the sum of all TPs accounted for around 30 % of CLD initially added, thus

eliminating the hypothesis of a complete fixation of CLD in the digestate matrix and proving that AD conditions are particularly suitable for CLD degradation even at high concentrations.

At this stage, several hypotheses could be proposed to explain the incomplete mass balance under thermophilic conditions: (i) the presence of other TPs not yet detected either because they require other analytical methods and/or instrumentations (e.g., GC-MS and LC-HRMS in positive/negative modes and/or with other ionization sources) or because the formed volatile/semi-volatile TPs were evacuated during the regular biogas measurements; (ii) the formation of irreversible adducts between CLD or fragments of CLD with biomolecules; (iii) the total biomineralization of a portion of CLD. Indeed, biomimetic chemical degradations performed by Schrauzer & Katz (1978) using reduced vitamin B₁₂ apparently formed several unexpected products: a C₃Cl₃H₂ fragment fixed onto the cobalt ion of vitamin B₁₂ and high molecular-weight condensation products. In addition, two studies demonstrated the possibility of biomineralizing CLD, albeit in small quantities (Fernández-Bayo et al., 2013; Jablonski et al., 1996).

All quantified TPs, except B1 in mesophilic conditions, tended to increase in concentration throughout AD. This observation does not exclude the possibility that the formed TPs could have been consumed during AD. To improve our knowledge of CLD fate in AD, the scrutinization of the fate of the main formed TPs, i.e., A1 and B1, would be of great interest.

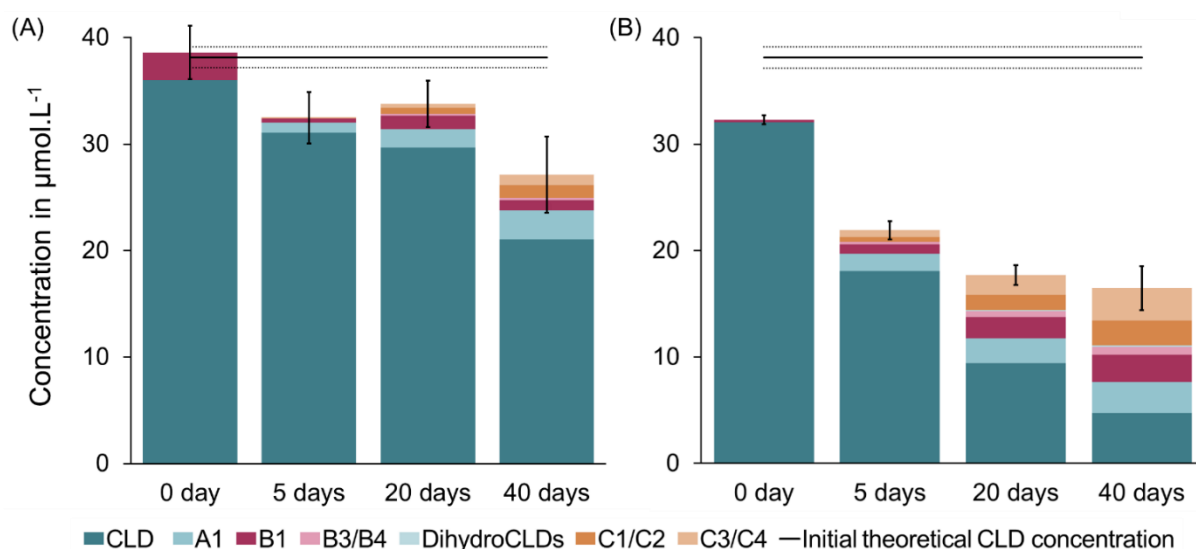


Figure 2.5. Mass balance of CLD degradation in mesophilic (A) and thermophilic (B) conditions from the quantification of CLD and its TPs (in GC-SIM-MS for family B and in LC-HRMS for CLD and families A and C); the error bars refer to the standard errors (n=6), the dashed lines represent the error around the initial theoretical CLD concentration supplemented in the digestate. Only concentrations above the LOQ are presented.

6. Conclusion

In addition to being an ecological strategy, anaerobic digestion (AD) could be regarded as a potential strategy for CLD bioremediation as it creates highly reducing conditions and can be easily scaled up to the industrial level. After 40 days of incubation with AD, CLD was degraded up to $42 \pm 8\%$ under mesophilic conditions ($37.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) and up to $85 \pm 5\%$ under thermophilic conditions ($55\text{ }^{\circ}\text{C}$). The development of an efficient QuEChERS extraction procedure made it possible to follow the disappearance of CLD as well as the occurrence of several TPs such as hydrochlordecones (A1 and dihydroCLDs), polychloroindenes (B1, B2, and B3/B4), and polychloroindenecarboxylic acids (C1/C3 and C3/C4). The formation, at significant levels, of many TPs ruled out the hypothesis of massive adsorption of CLD on the organic matter of AD and allowed us to conclude on an unambiguous degradation of CLD. Even though a complete mass balance was not reached, the quantification of these TPs allowed new insights on the fate of CLD under methanogenic conditions. Altogether, these results provide proof of concept that AD, especially under thermophilic conditions, could be considered an effective bioremediation strategy to treat CLD-contaminated organic wastes and thus prevent the translocation of CLD pollution to other environmental compartments. The lack of direct evidence of CLD mineralization in AD raises the question of the possible risks associated with the accumulated TPs, albeit present at much lower levels especially if the digestate is to be further used as a fertilizer or for soil amendment. Therefore, the fate of the accumulated TPs and CLDOH, also present with CLD in animal dejections, under methanogenic conditions, calls for further research. To confirm its viability, the current proof of concept must undergo validation through AD experiments with organic wastes from animals exposed to CLD. Such contaminated wastes contain lower concentrations of CLD (up to around $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), it is important therefore to assess the transferability of the degradation capacity observed at high concentration ($20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) to lower concentrations where particular metabolic routes may be activated/deactivated. The expected low levels of CLDOH, CLD and its TPs (probably below $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in the resulting liquid digestates will necessitate improvements to the newly-developed QuEChERS protocol to achieve lower LOD and LOQ for these substances. Additional experiments should also be carried out with laboratory-scale continuous digesters, similar to the systems foreseen in the FWI.

7. Développement d'un protocole de traitement de données pour l'analyse non-ciblée de composés chlorés

Durant les processus de remédiation d'un pesticide, des produits de transformation peuvent se former lorsque la dégradation de ce dernier n'est pas complète, comme cela était le cas pour les dégradations en conditions méthanogènes de la chlordécone étudiées. Malgré tout le travail de dosage des

PTs dans la matrice digestat, nous n'avons pas réussi à obtenir des bilans de masse complets. Il est possible que les conditions particulières de ces expériences (température, pH, population microbienne, ...) aient pu conduire à la formation de PTs non inclus parmi la cinquantaine de dérivés de notre base de données. Ces composés ne sont, par définition, pas recherchés par les méthodes ciblées qui ont été développées. Des analyses non-ciblées peuvent être réalisées afin d'analyser l'extrait sans *a priori*. Il est bien évident que si le nouveau PT est mal extrait ou ne répond ni en GC-El(+)-MS ni en LC-ESI(-)-MS, méthodes utilisées dans notre cas, il ne pourra pas être trouvé, même après retraitement des données. En GC-MS, les analyses qui sont réalisées par ionisation par impact électronique utilisent historiquement une énergie d'ionisation de 70 eV. Cette ionisation, reproductible, a permis aux différents laboratoires d'enregistrer leurs spectres de masse et de pouvoir les comparer. Pour cela, ils les ont réunis dans des bases de données (Vinaixa et al., 2016), dont la plus connue est la bibliothèque NIST (National Institute of Standards and Technology). Installée par défaut dans les logiciels de traitement des données des différents constructeurs, elle permet de faciliter la comparaison des spectres de masse avec ceux enregistrés afin d'annoter des pics inconnus. Bien que les bases de données soient régulièrement mise à jour, tous les composés n'y sont pas répertoriés, comme par exemple les produits de transformation de la CLD. De plus, l'utilisation d'un spectromètre de masse possédant un simple quadripôle, comme c'est notre cas, limite considérablement la recherche non-ciblée du fait de son manque de résolution qui conduit au chevauchement d'interférents matriciels avec les signaux d'intérêt. Ainsi, l'utilisation d'un spectromètre de masse à haute résolution (HRMS) serait préférable pour réaliser une recherche non-ciblée efficace. Nous avons donc choisi de privilégier les données issues de l'analyse LC-HRMS réalisée.

Dans le cadre du traitement d'une analyse non-ciblée, plusieurs étapes sont généralement nécessaires. Chaque fournisseur de spectromètre de masse utilise un format de fichier qui lui est propre, avec, dans notre cas, le format «.raw » pour les données acquises avec un spectromètre de masse Orbitrap (Thermo Fisher Scientific). Dans un premier temps, il est important de convertir le fichier dans un format universel afin de le rendre utilisable par tous et pendant un temps long, et de faciliter sa prise en charge par des logiciels de retraitement de données. Ainsi, le module *MsConvert* issu de *ProteoXizard* (3.0.20217) a été utilisé afin de convertir les fichiers «.raw » en «.mzXML ». Les données acquises en LC-HRMS génèrent beaucoup d'informations. Afin de faciliter le traitement des données, il faut également convertir les données acquises en mode profil, donnant un pic en forme d'onde, en mode centroïde qui transforme le pic en barre centrée sur le milieu du pic de hauteur correspondant à la surface du pic (Figure 2.6). Cette étape a également été réalisée pendant la conversion du format de fichier.

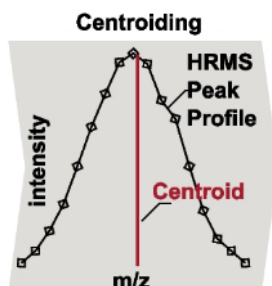


Figure 2.6. Schéma représentant la conversion des données acquises en mode profile en mode centroïde (Renner & Reuschenbach, 2023).

La seconde étape consiste à récupérer la liste des pics d'intérêt contenus dans nos échantillons. Plusieurs logiciels ont ainsi été développés. Le logiciel *XCMS* a été développé initialement pour retraiter et analyser des données de métabolomique mais il peut être aussi utilisé dans le cadre d'analyses non ciblées de polluants émergents dans des matrices environnementales. *HaloSeeker 1.0* est un logiciel destiné à la recherche non-ciblée de composés organochlorés dans des matrices complexes à l'aide d'une interface accessible (Léon et al., 2019). Après avoir échangé avec les développeurs (LABERCA, Nantes), nous avons pu tester une version bêta de *HaloSeeker 2.0*. L'intégration de la recherche automatique de molécules chlorées complétée par des propositions d'annotation représentent un avantage. Cependant, plusieurs inconvénients nous ont fait choisir le logiciel *XCMS* (pas de comparaison blanc-échantillon, problème logistique dû à la version bêta, paramétrages limités).

Les fichiers en format « .mzXML », préalablement convertis, correspondant aux échantillons et aux blancs matrices sont chargés sur la plateforme *XCMS online*. La sélection des pics ou *peak picking* a été réalisée avec l'algorithme *CentWave*. La première étape consiste à repérer une région d'intérêt (ROI) constituée autour d'un m/z ayant une forte intensité et pour laquelle la déviation autour de ce m/z est faible. En effet, pour un même composé, il peut y avoir entre les scans et entre les échantillons une faible déviation du m/z . Le filtre à vaguelette ou *wavelet filter* est ensuite appliqué pour détecter les pics présents dans la ROI. Les signaux sont ensuite convolués pour obtenir des pics ayant pour caractéristiques un m/z , un temps de rétention et une intensité. Les pics doivent ensuite être alignés entre les chromatogrammes, puisqu'une légère déviation peut également apparaître sur le temps de rétention. Pour cela, l'algorithme *obiwarp* a été utilisé, permettant de trouver la médiane du profil de rétention entre les chromatogrammes et de les aligner selon cette médiane. Les pics sont alors regroupés en clusters pour former des features, correspondant à un unique m/z pour un temps de rétention et une intensité. Ainsi, le logiciel génère la liste des features détectés en indiquant leur présence dans un ou plusieurs échantillons ou blancs matriciels. La base de données MetLin est directement implémentée dans le logiciel, permettant d'annoter les pics en choisissant les adduits. Différents niveaux d'annotation ont été définis conduisant à l'identification de la molécule (Blaženović et al., 2018). Lorsqu'un feature est

détecté dans un échantillon, il obtient automatiquement le niveau 4 des niveaux de confiance. Lorsqu'une première hypothèse est donnée sur la possible nature du composé telle qu'une idée d'une fonction chimique ou d'une structure, le niveau 3 d'annotation est atteint. Ensuite, une correspondance du feature avec une molécule suite à une comparaison avec une base de données ou la littérature conduit au niveau 2. Le niveau 1 est ensuite atteint lorsqu'une référence a été utilisée pour valider avec un certain degré de confiance la structure du feature avec deux techniques orthogonales (LC-MS par exemple). Enfin, un niveau 0 signifiant l'identification d'une molécule intervient lorsqu'il n'y a plus de doute sur la structure du composé. Si un feature intéressant est détecté dans nos échantillons, ces niveaux de confiance devront être considérés afin de proposer une structure.

Dans notre cas, nous avons paramétré ce protocole de retraitement de données avec les spécifications des données LC-HRMS acquises. Afin de découvrir de nouveaux PTs de la CLD, nous nous sommes appuyés sur le profil isotopique particulier de ces molécules provenant de l'abondance naturelle significative de deux isotopes de l'élément chlore, les isotopes ^{35}Cl (75,77 %) et ^{37}Cl (24,23 %) (Figure 2.7). En exploitant le fait que deux isotopomères de l'élément chlore possèdent le même temps de rétention et une différence de rapport m/z égale à 1.997, une recherche non ciblée sur ces deux critères peut être menée afin de sélectionner plus facilement les composés répondant à ces deux critères et pouvant correspondre à des molécules chlorées.

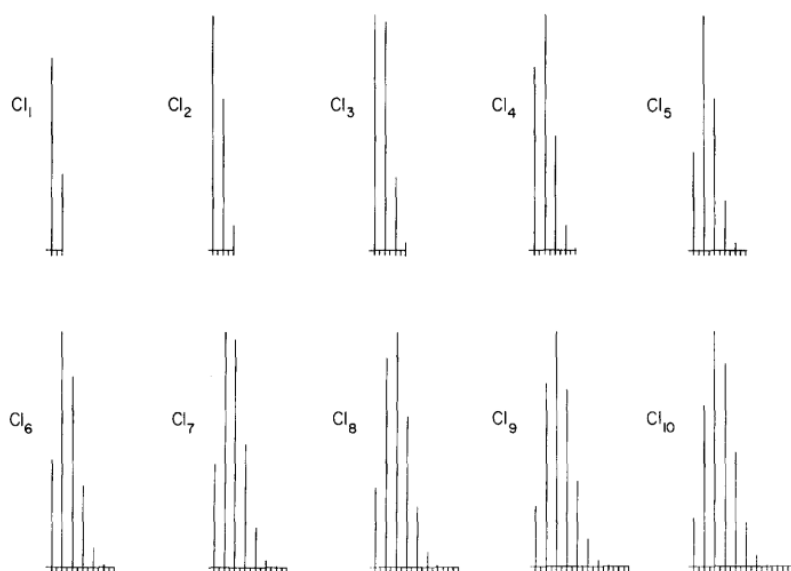


Figure 2.7. Modèles théoriques de profils isotopiques caractéristiques de la présence de un à dix atomes de chlore dans une molécule, d'après LaBrosse & Anderegg, 1984

Ainsi, j'ai développé un algorithme sur VBA (*Excel 2016*) en m'appuyant sur ces deux caractéristiques afin de trier les données et de sélectionner les clusters d'intérêt. Initialement, les features sont classés par ordre croissant. Notre recherche est basée sur les composés formés à la suite de la dégrada-

tion de la CLD. Ainsi, les features détectés seulement dans les échantillons et non dans les blancs matriciels sont sélectionnés. Un tri sur les temps de rétention est ensuite réalisé en soustrayant le Rt_i et le Rt_{i+1} . Si une différence comprise entre 0.01 et 0.005 min est trouvée, les features correspondant sont gardés tandis que ceux ne répondant pas à ce critère sont éliminés. Un deuxième tri sur les m/z est effectué avec comme consigne une différence de ± 1.997 ou ± 3.993 ou ± 5.992 , correspondant aux l'isotopomères $+1 \text{ }^{37}\text{Cl}$, $+2 \text{ }^{37}\text{Cl}$ ou $+3 \text{ }^{37}\text{Cl}$ respectivement. Enfin, un tri est réalisé sur les intensités qui doivent être comprises entre 0.1 et 10 afin de correspondre au profil isotopique des composés. Les features retenus sont ensuite groupés en fonction de leur temps de rétention. Une fois tout ce processus réalisé, une liste avec tous les clusters correspondant aux critères ci-dessus est affichée. Les features sélectionnés sont recherchés dans le spectre de masse correspondant afin de vérifier manuellement si le profil isotopique correspond à une molécule chlorée. Des simulations peuvent alors être effectuées afin d'annoter les molécules. Cependant, la confirmation de l'identité de la molécule ne peut avoir lieu qu'avec l'étalon qui viendra confirmer ou non le bon spectre de masse et le temps de rétention. La validation de l'algorithme VBA a été effectuée par la mise en évidence de features issus de la CLD, de A1 et des acides tri- et tétrachloroindènedicarboxyliques C1-C2 et C3-C4 à partir d'échantillons de digestat T40 jours. Ces analyses non-ciblées ont alors été réalisées sur chaque temps d'incubation. Cependant, aucun nouveau composé chloré n'a pu être mis en évidence. Pour compléter ce travail, il faudrait réaliser de nouvelles analyses, notamment en utilisant un instrument de type GC-HRMS et en variant les conditions d'ionisation (autres sources) et le mode d'acquisition (positif/négatif).

8. Conclusion générale et perspectives

L'objectif général de cette preuve de concept était de démontrer que la CLD pouvait être dégradée en conditions méthanogènes. Pour cela, des expériences de méthanisation de digestats préalablement supplémentés avec de la CLD à $19.5 \pm 0.5 \text{ mg.L}^{-1}$ ont été réalisées en conditions mésophiles et thermophiles, correspondant aux deux conditions couramment utilisées dans les réacteurs de méthanisation. Les protocoles analytiques développés (extraction QuEChERS, analyses GC-MS et LC-HRMS) ont permis d'atteindre des sélectivités et sensibilités suffisantes, avec des LODs inférieures à une conversion de 1 % de la CLD en différents PTs. Ce protocole a ensuite pu être appliqué avec succès sur les expériences de méthanisation de la CLD. Cependant, le bilan de matière dans les deux conditions a montré que 35 % de matière en conditions mésophiles et 49 % de matière en conditions thermophiles restaient à expliquer.

À l'issu de ce travail, des questions et des perspectives de recherche se dessinent, en particulier sur la part manquante du bilan de masse. Une expérience d'extraction QuEChERS après traitement acide fort a été réalisée sans apporter d'amélioration. Elle était inspirée des travaux de Fariss et collègues

(1980) qui ont augmenté la quantité de chlordécone récupérée dans leurs échantillons biologiques par ce traitement supplémentaire. Des adduits chlordécone-biomolécule auraient ainsi été hydrolysés, libérant une fraction significative de CLD dans le milieu. La durée d'incubation des étalons internes dans les digestats avant extraction ont pu jouer un rôle dans les résultats de quantification que nous avons obtenus. En fait, même si nous ne l'avons pas présenté dans l'article publié, nous avons effectué une comparaison de temps de contact d'une heure et vingt-quatre heures. Aucune différence significative n'ayant été constatée, pour des questions de praticité, nous avons retenu un temps de contact d'une heure. Nous avons également vérifié notre estimation des incertitudes de mesure. Les exactitudes calculées ont montré que la méthode QuEChERS était tout à fait correcte pour la quantification des composés.

Il a déjà été observé qu'une part non extractible de CLD pouvait apparaître au cours du temps (Fernández-Bayo et al., 2013; Hellal et al., 2021), des PTs non détectés jusque-là pourraient également compléter le bilan, à moins qu'une fraction de la CLD ait déjà été biominéralisée. Tous les échantillons ont été congelés avant d'être envoyés au Genoscope. Il faudrait vérifier que la congélation des digestats à -20 °C n'ait aucun effet négatif sur leur extraction. Une autre piste concerne les méthodes d'analyse utilisées. Même si nous sommes la seule équipe à rechercher les PTs de la chlordécone en GC-MS et LC-HRMS, nous n'avons pas exploré tous les types d'ionisation et tous les modes (positif/négatif). Certains composés, faiblement chlorés, peuvent par exemple être détectables en mode positif (Alder et al., 2006). Ainsi, une analyse LC-HRMS en mode positif aurait pu apporter des informations supplémentaires. Des analyses GC-HRMS auraient pu permettre d'effectuer des recherches non-ciblées dans ce mode d'analyse-là. Comme l'ont montré Schrauzer et Katz (1978), il est possible de dégrader la chlordécone avec la vitamine B₁₂ en conduisant à des fragments C₃Cl₃H₂ qui se fixeraient sur le centre métallique cobalt. Hydrolysés, ces fragments conduiraient à des composés volatils qui seraient libérés lors des phases de dégazage du biogaz régulièrement réalisées au cours des expériences de dégradation.

Pour apporter un éclairage nouveau sur le devenir de la CLD en conditions méthanogènes, il serait intéressant d'étudier la dégradabilité des PTs qui ont été détectés dans l'expérience initiale tels que A1, B1 et C1/C2. Cela permettrait de déterminer s'il s'agit d'intermédiaires réactionnels sur des voies de dégradation plus avancées ou au contraire de produits de fin de voie.

Une autre direction à poursuivre concerne l'étude de la dégradabilité du CLDOH en conditions méthanogènes. En effet, dans le processus de métabolisation de la CLD chez l'animal, une partie de la CLD est transformée en CLDOH, puis le mélange (CLD/CLDOH (2:1) environ) est excrété via les fèces et les urines. Le traitement par méthanisation efficace pour la CLD, sera-t-il également performant pour le CLDOH ? Tout ou partie de ces questions seront abordées dans le cadre de la thèse de Perla Alnajjar. Enfin, le protocole de traitement de données pour l'analyse non-ciblée de composés chlorés pourra servir à la recherche de PTs encore inconnus dans ces expériences de biodégradation.

- Chapitre 3 - Développement d'un protocole analytique pour la détection des produits de transformation de la chlordécone et d'autres organochlorés dans les eaux de surface et souterraines des Antilles françaises

Contribution de l'auteur :

Déborah E. Martin, Delphine Muselet, Hussein Kansa, Anne Berrehouc, Juliette Mexler, Yves Le Roux, Lai-Ting Pak, Jean-Baptiste Charlier and Pierre-Loïc Saaidi , Analysis of chlordecone and its transformation products in environmental waters by SPME-GC-MS and other methods: a case study in the French West Indies.

Dans cette étude, j'ai mis au point la méthode d'extraction et paramétré la méthode d'analyse GC-MS afin de détecter et quantifier la CLD, l'ensemble des PTs détectables en GC-MS et disponibles au laboratoire ainsi qu'un certain nombre de composés organochlorés possiblement présents dans les eaux environnementales aux Antilles. J'ai optimisé le protocole d'extraction SPME en faisant varier différents paramètres (nature de la fibre, durée et température d'incubation et de désorption, notamment). J'ai ensuite établi les performances analytiques de la méthode et effectué sa validation. Au cours de ce travail, Delphine Muselet (Technicienne, CEA) m'a apporté une aide technique liée à tous les problèmes matériels rencontrés et a contribué à l'acquisition de certaines données. Hussein Kansa (Chercheur CDD, CEA) a effectué les synthèses des standards des produits de transformation ainsi que des standards internes non commerciaux.

Parallèlement, les campagnes d'échantillonnages des eaux ont été réalisés par Juliette Mexler (BRGM, Guadeloupe) et Lai-Ting Pak (CIRAD, Martinique). J'ai alors réalisé l'analyse des échantillons avec la méthode SPME-GC-SIM-MS avec l'aide de Delphine Muselet. Les extractions liquide-liquide supplémentaires réalisées pour les échantillons de Guadeloupe, ont été réalisées par Delphine Muselet et moi en parallèle. J'ai ensuite effectué les analyses GC-SIM-MS et LC-HRMS, puis traité les données obtenues par les trois méthodes : SPME-GC-SIM-MS, LLE-GC-SIM-MS et LLE-LC-HRMS. Enfin, j'ai utilisé les données LLE-GC-MS/MS et LLE-LC-MS/MS obtenues par le BRGM et le LDA26 (La Drôme Laboratoire) pour effectuer la comparaison inter-laboratoires.

Pour l'article, j'ai écrit la première version et réalisé tous les tableaux et figures. J'ai également pris en charge l'ensemble du *Supplementary Informations*. Les relectures et corrections ont dans un premier temps été réalisées par Pierre-Loïc Saaidi et moi-même. Une version avancée du manuscrit a ensuite été envoyée aux autres co-auteurs pour les corrections finales.

1. Résumé

La CLD, très persistante dans l'environnement, pollue aujourd'hui encore de larges zones terrestres et côtières (Desprats, 2021; Dromard, Allenou, et al., 2022; Dromard, Devault, et al., 2022). Stockée dans les sols, la CLD est entraînée par les eaux de pluie majoritairement en profondeur (infiltration) ou plus faiblement à la surface par ruissellement (Ponchant et al., 2020). Les eaux souterraines sont alors très chargées en CLD et peuvent ensuite venir contaminer les eaux de rivière et les sources. Les problèmes d'approvisionnement en eau courante, en particulier en Guadeloupe, des dernières années ont accru l'utilisation par les populations locales des eaux de source pouvant être très contaminées (concentrations en chlordécone supérieures à $5 \mu\text{g.L}^{-1}$, soit 50 fois la limite de potabilité) (Revised Drinking Water Directive 2020/2184/EC, 16 December 2020). Un risque sanitaire est également encouru par la consommation de poissons d'eaux douces pouvant être eux-mêmes contaminés. Afin de mieux comprendre la pollution à la CLD de ces milieux et mieux la gérer, notamment avec l'orientation des pratiques agricoles, des dispositifs d'observation (par exemple, le bassin versant de la Rivière Galion en Martinique et l'hydrosystème des rivières Pérou et Pères en Guadeloupe) ont été mis en place et regroupés dans le cadre d'OPALE (Observatoire de la pollution agricole aux Antilles). L'acquisition de ces données permet également d'aiguiller les recommandations à destination de la population. À travers ces dispositifs, les eaux de surface et souterraines sont suivies régulièrement et analysées par le LDA26 (La Drôme Laboratoire, Valence, France) et le BRGM (Bureau de Recherche Géologique et Minière, Orléans). Les méthodes du LDA26 incluent la détection de la CLD, du CLDOH, et de la 8-monohydroCLD (A2). La 10-monohydroCLD (A1) est également dosée par le BRGM. À l'origine destiné à étudier la CLD et ses PTs, le dispositif s'est ensuite élargi à plusieurs autres polluants utilisés aux Antilles françaises dont d'autres composés organochlorés. Afin d'étendre les connaissances sur le niveau de contamination de ces eaux, notamment déterminer l'éventuelle présence d'autres PTs de la CLD, nous avons engagé une collaboration avec le BRGM et le CIRAD.

L'extraction liquide-liquide est la méthode d'extraction classiques pour l'analyse des eaux environnementales (da Silva Sousa et al., 2021). C'est d'ailleurs celle utilisée par le LDA26 et le BRGM pour leur suivi de la pollution (Cattan et al., 2019). Sa simplicité ainsi que son faible coût en font une méthode de choix pour ces échantillons liquides. Suivie d'analyses en GC-MS/MS ou LC-MS/MS, cette méthode permet d'atteindre des LOQs suffisantes et inférieures aux limites maximales de résidus fixées à $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour le pesticide seule ($0.03 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour l'aldrine et le dieldrine) et $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour la somme des pesticides (Revised Drinking Water Directive 2020/2184/EC, 16 Décembre 2020). Ces techniques analytiques ont une grande spécificité et sensibilité, permettant de s'affranchir des éventuels effets matrices générés par la concentration de l'échantillon. Seulement, ces machines sont très coûteuses et ne sont pas accessibles au laboratoire où nous disposons seulement d'une GC-MS équipée d'un simple

quadripôle. Dans le but de développer un protocole analytique fiable, sensible et sélectif, nous avons décidé de développer un protocole avec la méthode de microextraction sur phase solide (SPME).

Pour cela, nous nous sommes appuyés sur les travaux de Soler et collègues (2014) qui avaient mis au point un protocole d'analyse par SPME pour la CLD dans l'eau. Ainsi, nous avons étudié plusieurs paramètres dont le choix de la fibre, la température d'extraction, la durée de l'extraction ainsi que la température et la durée de désorption de la fibre dans l'injecteur de la GC-MS. Une fois développé pour plusieurs PTs présentant des propriétés physico-chimiques variables, nous avons intégré d'autres organochlorés afin d'élargir notre recherche avec des pesticides anciennement utilisés aux Antilles et qui, pour certains, sont encore retrouvés dans les eaux (Rochette et al., 2017; Wintz & Pak, 2021). Une des premières limitations était de disposer des PTs de la CLD en quantité suffisante ainsi que des étalons internes pour réaliser des gammes de calibration fiables. En effet, certains de ces produits ne sont pas commercialement disponibles, ou s'ils le sont, présentent un coût très élevé. Hussein Kanso (Chercheur CDD, CEA) a synthétisé les PTs nécessaires pour cette étude. Pour la CLD, l'utilisation de la $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD comme étalon interne a été choisie afin de s'assurer le bon dosage de la CLD. Pour le CLDOH, un important travail en synthèse organique a été réalisé par Hussein Kanso afin de déterminer le meilleur étalon interne tout en limitant le coût des analyses. Une comparaison de la réponse de plusieurs analogues structuraux du CLDOH a ainsi été réalisée. Enfin, afin d'avoir une méthode multi-résidus plus polyvalente, nous avons intégré plusieurs autres organochlorés. Les performances de la méthodes SPME qui ont ensuite été évaluées sont proches, voire meilleures que celles du LDA26 et du BRGM. Cette méthode est donc très avantageuse au vu de la plus faible quantité d'échantillon utilisée pour atteindre des limites de détection similaires (20 ml contre 500 ml à 1 L pour les deux autres laboratoires). De plus, cette méthode automatisable qui n'utilise pas de solvant, est plus respectueuse de l'environnement et moins chronophage. Une comparaison inter-laboratoires a permis de valider notre méthode de dosage. Pour le CLDOH, détecté dans la majorité des échantillons, mais à des teneurs très différentes selon les laboratoires, un nouvel essai inter-laboratoire devra être mené pour confirmer la validité de la méthode SPME-GC-SIM-MS.

2. Abstract

Among the numerous organochlorines (OCs) applied in the French West Indies (FWI), chlordecone ($C_{10}Cl_{10}O_2H_2$; CLD) still causes major environmental pollution nowadays. A recent report revealed the unexpected presence of transformation products (TPs) of CLD not routinely monitored due to a lack of commercial standards. Here, we present a method for surface waters and groundwaters to analyze CLD, its main TPs (hydroCLD, chlordecol (CLDOH), and polychloroindenes), and other OCs. We developed an SPME-GC-SIM-MS method with PDMS-DVB fiber. 10-monohydro-5-methyl-chlordecol was synthesized and used as an internal standard for CLDOH and 10-monohydroCLDOH quantification. LODs varied from 0.3 to 10 $ng.L^{-1}$, equal to or lower than LODs of laboratories involved in FWI pollution monitoring that used liquid extraction and advanced facilities (GC- and LC-MS/MS). We applied the multi-residue method, including 30 OCs (e.g. CLD and its TPs, mirex, β -HCH, lindane, dieldrin, aldrin, HCB, hexachlorobutadiene, TCE, PCE) to 30 FWI waters. While CLD, 8- and 10-monohydroCLD, CLDOH, 10-monohydroCLDOH, dieldrin, and β -HCH were detected and quantified, pentachloroindene, another CLD TP, was sporadically found in trace levels. An inter-laboratory trial with BRGM (the French geological survey) and LDA26 (one of the French Departmental Analytical Laboratories) confirmed the interest of the SPME method. Several discrepancies call for intensified efforts to reliably quantify CLD and its TPs, results suggesting an underestimation of CLDOH and an overestimation of high CLD concentrations with the current routine protocol.

3. Introduction

Before being progressively banned since the 1970s, organochlorine pesticides (OCPs) have been largely used worldwide since the 1940s for pest control in crops. In the French West Indies (FWI), the tropical climate has led to the use of several OCPs such as hexachlorocyclohexanes (HCHs), aldrin, dieldrin, and chlordecone (Bonvallot & Dor, 2004). From 1972 until 1993, chlordecone ($C_{10}Cl_{10}O_2H_2$; CLD) has been applied extensively in banana plantations, causing massive environmental pollution predicted to last for 50 to 700 years depending on the predicting models (Cabidoche et al., 2009; Comte et al., 2022; Saaidi et al., 2023). CLD concentrations above 1 $mg.kg^{-1}$ of DM (dry matter) can still be detected in several polluted fields nowadays (Desprats, 2021; Comte et al., 2022). Among the diverse pesticides detected, CLD turned out to be, by far, the most frequent one for waters in FWI, with maximum levels ranging from about 0.1 to 5 $\mu g.L^{-1}$ for the most polluted rivers (Rochette et al., 2020; Voltz et al., 2023) and from about 1 to 50 $\mu g.L^{-1}$ for the most polluted aquifers (Gourcy et al., 2009; Arnaud et al., 2017). CLD also accumulates in food chains and sporadically contaminates tap water, resulting in very high impregnation of the FWI population as reported by Dereumeaux et al. (2020) in the Kannari study; more than 90 % of the 746 tested subjects from Martinique and Guadeloupe showing detectable level of CLD

in blood. Chronic exposure to CLD, known as an endocrine disruptor (Multigner et al., 2018), increases the risk of health problems such as prostate cancer and delayed motor and cognitive development in infants (Brureau et al., 2020; Dallaire et al., 2012; Desrochers-Couture et al., 2022; Multigner et al., 2010). Recently, several studies highlighted the possible (bio)degradation/transformation of CLD, both in laboratory and FWI environment, resulting in a series of transformation products (TPs) of varying polarity: hydrochlordecones (family A, hydroCLDs, $C_{10}Cl_{10-n}O_2H_{2+n}$, $1 \leq n \leq 5$), polychloroindenes (family B, $C_9Cl_{6-n}H_{2+n}$, $1 \leq n \leq 3$), polychloroindenecarboxylic acids (family C, $C_{10}Cl_{5-n}H_{3+n}O$, $1 \leq n \leq 5$), methyl polychloroindenecarboxylates (family D, $C_{11}Cl_{5-n}H_{5+n}O_2$, $1 \leq n \leq 2$), ethyl polychloroindenecarboxylates (family E, $C_{12}Cl_{5-n}H_{7+n}O_2$, $1 \leq n \leq 2$), chlordecthiol and chlordecol (CLDOH) and their derivatives (families F and G, respectively) (Schrauzer & Katz, 1978; Belghit et al., 2015; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Lomheim et al., 2020, 2021; Hellal et al., 2021; Taïlamé et al., 2023).

Although TPs from families A, B, C, and E have been detected in surface waters as part of a recent prospective work (Chevallier et al., 2019), most CLD TPs are not routinely monitored due to the lack of commercially available standards. As a consequence, studies investigating CLD pollution of the FWI environmental waters are accumulating with limited or no information on TPs of CLD potentially present (Charlier et al., 2015; Crabit et al., 2016; Della Rossa et al., 2017; Mottes et al., 2017, 2020; Devault et al., 2018; Cattan et al., 2019; Rochette et al., 2020; Dromard et al., 2022; Voltz et al., 2023).

The aim of the present work was to develop a robust, efficient and environmentally friendly method for surface waters and groundwaters to analyze CLD, its main TPs such as hydrochlordecones, chlordecol, and polychloroindenes, the other OCPs known to be present in FWI (aldrin, dieldrin, hexachlorobenzene (HCB), lindane and other HCHs (hexachlorocyclohexanes)) and some other organochlorines (OC) not routinely monitored (hexachlorobutadiene (HCBd), trichloroethylene (TCE) and perchloroethylene (PCE). Liquid-liquid extraction (LLE) has been used almost systematically in methods previously developed for CLD quantification in the water matrix (Bristeau & Ghestem, 2012; Cimetiere et al., 2014; Devault et al., 2018; Chevallier et al., 2019; Mottes et al., 2020). However, LLE suffers from a number of drawbacks such as the large quantities of sample needed (generally, from 500 mL to 1 liter), the toxic solvents typically used such as dichloromethane or hexane (Devault et al., 2018; Chevallier et al., 2019; Mottes et al., 2020) and the operator intervention time required. Despite the pioneering work of Soler et al. (2014) who successfully replaced LLE with a solid phase micro extraction (SPME) step to detect CLD, no SPME method has been published to date for the simultaneous detection of CLD, its TPs, and other FWI organochlorine contaminants. SMPE consists of solvent-free extraction via the use of a fused silica fiber coated with a polymeric stationary phase (Belardi & Pawliszyn, 1989). Some disadvantages exist such as fiber fragility, poor selectivity, presence of carryover, difficulties in extracting polar analytes, and detection of only dissolved analytes (Liu et al., 2004; Spietelun et al., 2010). However, this alternative

method to LLE also offers several advantages such as solvent absence, simplicity, sample concentration, extraction automation, and good reproducibility, making it effective for the quantification of different compounds at trace levels in water samples (Spiegelun et al., 2010). Therefore, we decided to switch to SPME instead of LLE for our new analytical developments. To increase the sensitivity of the GC-MS method, we used the SIM (single ion monitoring) mode and selected a number of OCs, such as CLD and its main TPs as well as other FWI legacy pollutants and their derivatives. Finally, the SPME-GC-SIM-MS method was applied to a series of 30 environmental water samples from FWI highly polluted sites and compared to our previous LLE method (Chevallier et al., 2019) as well as two other well-established methods routinely used by La Drôme Laboratoire, formerly known as Laboratoire Départemental d'Analyses de la Drôme (LDA26, Valence, France) and the Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM, Orléans, France). Indeed, the LDA26 and BRGM laboratories have long been involved in monitoring CLD pollution in FWI (Bristeau & Ghestem, 2012; Arnaud et al., 2017; Della Rossa et al., 2017; Cattani et al., 2019; Mottes et al., 2020; Rochette et al., 2020; Dromard et al., 2022; Voltz et al., 2023) and are among the few laboratories capable of simultaneously quantifying CLD and some of its TPs: chlordecol (CLDOH), 8-monohydrochlordecone (IUPAC nomenclature; 5b-monohydrochlordecone for CAS nomenclature; A2) for both laboratories and 10-monohydrochlordecone (IUPAC nomenclature; 5-monohydrochlordecone for CAS nomenclature; A1) for BRGM only. Results demonstrated the promising interest in the developed SPME-GC-SIM-MS method for monitoring CLD, its TPs as well as several OCPs at environmental concentrations.

4. Materials and method

4.1 Chemicals

Chlordecone (CLD, $C_{10}Cl_{10}O_2H_2$, purity > 99 %) and chlordecol (CLDOH, $C_{10}Cl_{10}OH_2$, purity 98 %) were supplied by Sigma and Azur Isotopes, respectively. 10-monohydrochlordecone (A1, $C_{10}Cl_9O_2H_3$), 8-monohydrochlordecone (A2, $C_{10}Cl_9O_2H_3$), 2,4,5,6,7-pentachloroindene (B1, $C_9Cl_5H_3$), 4,5,6,7-tetrachloroindene (B2, $C_9Cl_4H_4$), 2,4,5,7/2,4,6,7-tetrachloroindene (B3/B4, $C_9Cl_4H_4$), and chlordecthiol (F1, $C_{10}Cl_{10}H_2S$) were synthesized according to literature procedures (Wilson & Zehr, 1979; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020). The syntheses of other compounds derived from CLD are detailed in Annexe 3. Supplementary Methods. Purity of all synthesized compounds was determined by NMR using an internal standard (IS) (Annexe 3. Supplementary Methods). Pentachlorobenzene (PCB, purity > 96 %), trichloroethylene (purity > 99.5 %), and tetrachloroethylene (purity > 99.9 %) were obtained from Aldrich. Hexachlorobenzene (HCB, purity > 99.8 %) and mirex (purity > 99 %) were supplied by Fluka. α -hexachlorocyclohexane (α -HCH, purity > 98 %), aldrin (purity > 98 %), and 1,3-hexachlorobutadiene

(HCBD, purity > 99 %) were obtained from Supelco. Chlorobenzene (MCB, purity > 99 %) and 1,3-dichlorobenzene (1,3-DCB, purity > 98 %) were purchased from Merck. Other organochlorines, 1,2-dichlorobenzene (1,2-DCB, purity > 98 %), 1,4-dichlorobenzene (1,4-DCB, purity > 99 %), 1,2,3-trichlorobenzene (1,2,3-TCB, purity > 99 %), 1,2,4-trichlorobenzene (1,2,4-TCB, purity > 99 %), 1,3,5-trichlorobenzene (1,3,5-TCB, purity > 99 %), β -hexachlorocyclohexane (β -HCH, purity > 98 %), γ -hexachlorocyclohexane or lindane (γ -HCH, purity > 97 %), δ -hexachlorocyclohexane (δ -HCH, purity > 98 %), dieldrin (purity > 95 %), 1,2,3,5-tetrachlorobenzene (purity > 98 %), 1,2,4,5-tetrachlorobenzene (purity > 98 %), 1,2,3,4-tetrachlorobenzene (purity > 98 %) were purchased from Sigma Aldrich.

The labelled internal standards, $^{13}\text{C}_{10}$ -chlordecone ($^{13}\text{C}_{10}$ -CLD, 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ in nonane, purity > 98 %, enrichment $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ > 99 %), $^{13}\text{C}_4$ -hexachlorobutadiene ($^{13}\text{C}_4$ -HCBD, 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ in isooctane, purity > 98 %, enrichment $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ > 99 %), $^{13}\text{C}_6$ -hexachlorobenzene ($^{13}\text{C}_6$ -HCB, 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ in nonane, purity > 98 %, enrichment $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ > 99 %) were supplied by Cambridge Isotope Laboratories. PCB 138 was supplied from Sigma Aldrich (purity > 98 %). 5-monodeuteriochlordecol (CLDOH-d, $\text{C}_{10}\text{Cl}_{10}\text{OHD}$), 5-methylchlordecol (CLDOH-Me, $\text{C}_{11}\text{Cl}_{10}\text{OH}_4$), and 10-monohydro-5-methylCLDOH (-1Cl-CLDOH-Me, $\text{C}_{11}\text{Cl}_9\text{OH}_5$) were synthesized according to protocols described in Annexe 3. Supplementary Methods. Working solutions stored at 4 °C in the dark were prepared in acetone, except for F1, which was prepared in ethanol, both solvents supplied by VWR (purity > 99.9 %).

SPME fibers with 65 μm polydimethylsiloxane-divinylbenzene (PDMS-DVB), 7 μm PDMS, 30 μm PDMS, 85 μm Acrylate, and 95 μm Carbon coating were purchased from Restek. Ultrapure water was obtained with a Milli-Q system. Inter-sample blanks were composed of Milli-Q water and methanol (50/50, v/v), obtained from VWR (LC-MS grade, purity > 99.9 %). Isopropanol, used to rinse fiber, was obtained from Merck (LC-MS grade).

4.2 Environmental water samples collection

The Observatory of Agricultural Pollution in the West Indies (OPALE) is composed of two catchments known to be highly polluted by CLD: the Pérou-Pères catchment in Guadeloupe and the Galion catchment in Martinique. In Martinique, three surface waters from the Galion River and its main tributaries were sampled in December 2021. 200-mL glass bottles were filled to maximum capacity after three rinses. In Guadeloupe, five surface waters from Saint-Denis, Pères and Pérou Rivers, as well as twenty-three groundwaters (from springs and wells) in Capesterre-Belle-Eau (Basse-Terre) were sampled over 2 campaigns (Spring/Summer and Autumn 2022) (Tableau S3.1 and Figure S3.22). The wells were sampled after pumping at least three purge volumes and the stabilization of the specific electrical conductivity of groundwater. One-liter amber glass bottles were rinsed twice before being filled to reach one cm from the top. These guidelines notably adhere to the recommendations of the following standards: French

standard NF EN ISO 5667-3 and guidelines FD T 90-523-3 (2009) and FD X31-615 (2000). For the inter-laboratory trial, each sample was taken in triplicate at the same time. Samples were kept on ice in coolers for immediate transport (after 2 days maximum) to the three laboratories involved in the interlaboratory trial (BRGM, LDA26, and Genoscope who developed the SPME-GC-SIM-MS method). All samples were then kept at 4 °C in the dark before analysis. The geographical location and details of sampling points are available in SI (Tableau S3.1 and Figure S3.22).

SPME-GC-SIM-MS analysis for each environmental water sample was repeated with a different operator and at a different time (after several weeks) to calculate mean concentrations and estimate standard deviations. This new method enabled the monitoring of seven TPs of CLD with LOQ of 10 ng.L⁻¹ or lower (Tableau 3.1): A1 and A2 (monohydrochlordecones), B1, B2 and B3/B4 (polychloroindenes), CLDOH and -1Cl-CLDOH (chlordecol and monohydrochlordecals) (Figure 3.1). For logistical reasons, some samples could not be analyzed by the three laboratories (Tableau S3.20). Furthermore, the limited commercial availability of CLD TPs restricted the set of TPs targeted by LDA26 and BRGM. LDA26 applied its routine analytical method, named CMO_MT02, based on LLE followed by a dual GC-MS/MS and LC-MS/MS analysis in order to quantify CLD, CLDOH, A2 (Rochette et al., 2017) and a number of OCs (Tableau S3.9). BRGM used an LLE-GC-MS/MS protocol and targeted CLD, CLDOH, A1, and A2 (Tableau S3.9). In addition, Genoscope used an LLE protocol followed by GC-SIM-MS and LC-HRMS analyses. It derived from the previous method that enabled the authors to detect several unexpected TPs in the FWI environment (Chevallier et al., 2019). Overall, for each water sample, it resulted in five concentration values for CLD according to Genoscope (SPME-GC-SIM-MS, LLE-GC-SIM-MS, LLE-LC-SIM-MS), BRGM (LLE-GC-MS/MS) and LDA26 (LLE-LC-MS/MS) (Tableau S3.10, Tableau S3.21).

4.3 Development of the SPME procedure

The SPME procedure was developed with CLD, CLDOH, A1, B1, and F1. Various parameters were optimized: type of fiber, extraction temperature, extraction time, desorption temperature, desorption time, and addition of NaCl. All optimizations were performed using 20 mL of Milli-Q water contaminated with the five compounds mentioned above at a concentration of 1 µg.L⁻¹, except for fiber screening carried out at a level of 100 µg.L⁻¹ for each compound. For details, see Annexe 3. Supplementary Text and Tableau S3.2.

4.4 SPME-GC-SIM-MS procedure

4.4.1 SPME protocol

A 20-mL vial (20mL Headspace screw top vial, Chromacol) was filled with 20 ml of environmental water, 10 µL of an acetone solution of IS (final concentration: 0.5 µg.L⁻¹ for ¹³C₁₀-CLD and 0.1 µg.L⁻¹ for

$^{13}\text{C}_4\text{-HCBD}$, $^{13}\text{C}_6\text{-HCB}$, PCB 138 and -1Cl-CLDOH-Me) and 120 μL of acetone. Incubated at 80 °C was performed under stirring for 40 min in the presence of PDMS-DVB fiber. Then, fiber was thermally desorbed in the GC-MS injector at 270 °C during 15 min. Fiber re-conditioning was carried out by immersion in isopropanol for 3 min followed by heating (see below for additional details). Since each vial was only extracted once, each water sample was prepared in duplicate, one for single ion monitoring (SIM) analysis and one for full scan (FS) analysis.

4.4.2 GC-SIM-MS parameters

Analyses were performed with a gas chromatography (Trace 1300, Thermo Fisher) coupled to a single-quadrupole mass spectrometer (ISQ 1700, Thermo Fisher). The chromatographic system was equipped with a TriPlus RSH autosampler and SPME tool for automated sample preparation (Thermo Fisher). Separation was carried out with a DB-5MS column (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm film thickness) (Agilent J&W). Fiber desorption was achieved using a split/splitless injector heated at 270 °C with a split ratio of 1:5. Helium was used as carrier gas at a flow rate of 2.5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Oven temperature program was set as follows: 45 °C hold for 15 min; increased to 140 °C at a rate of 50 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ (hold 1 min); then to 160 °C with a rate of 6 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ and finally to 282 °C with a rate of 7.5 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. For fiber reconditioning, a programmed temperature vaporization injector (PTV) with a split ratio of 1:42 was heated at 340 °C for 10 min. Mass spectrometer was operating in electronic ionization mode (EI) at 70 eV and spectra were acquired in positive mode. Ion source and transfer line temperatures were set at 220 °C and 280 °C, respectively. SIM was applied by monitoring a quantifying ion and a qualifying ion for each targeted compound (Tableau S3.3 and Tableau S3.4). FS analysis was also performed over an m/z range of 40 to 270 until 21 min, then between m/z 160 and 500 until the end of elution.

4.5 Performances of the SPME-GC-SIM-MS method

Natural volcanic mineral water (Volvic water) was used as a blank matrix. Linearity was evaluated with five calibration levels adapted to the expected environmental concentrations of each organochlorine (Tableau 3.1 and Tableau S3.7, Figure S3.24 and Figure S3.25). IS concentrations were kept constant: 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for $^{13}\text{C}_{10}\text{-CLD}$ and 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for the others. Accuracies were evaluated at two concentration levels ($n = 3$) (low level at 2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for CLD and between 0.015 and 0.075 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ otherwise; high level at 12.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ for CLD and between 0.125 and 0.38 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ otherwise) and intraday relative standard deviations (RSD) of accuracy replicates were achieved (Tableau 3.1 and Tableau S3.7). Matrix effects and recoveries were normalized by the isotopic dilution for CLD with $^{13}\text{C}_{10}\text{-CLD}$, HCB with $^{13}\text{C}_6\text{-HCB}$ and HCBD with $^{13}\text{C}_4\text{-HCBD}$. Limits of detection (LOD) were evaluated using a signal-to-noise ratio of three and confirmed with the detection of each compound at the LOD concentration. Limits of quantification (LOQ) were set at three times the estimated LOD. For the environmental analysis campaign, a series of three

successive samples were bracketed by five calibration levels analyzed in duplicate (two independent vials for each level).

4.6 Other LLE methods applied

4.6.1 LDA26 protocol

As part of the OPALE Observatory, environmental waters from Guadeloupe and Martinique are regularly analyzed by LDA26 using the previously described CMO-MT02 method (Charlier et al., 2015) using LLE. LDA26 is accredited by COFRAC (French Accreditation Committee) and works under the ISO 17025 standard. Their multi-residue method includes the detection of: CLD, CLDOH, and A2 in HPLC-MS; aldrin, dieldrin, HCHs (α , β , δ and γ), HCB, PCB, 1,2,3,4-TeCB, 1,2,4,5,-TeCB, 1,3,4,5-TeCB, and mirex in GC-MS/MS. LOQs were set at 1 ng.L⁻¹ for 1,2,3,4-TeCB, 2 ng.L⁻¹ for α -, δ - and γ - HCH, 5 ng.L⁻¹ for 1,2,4,5, TeCB, PCB, β -HCH and mirex and 10 ng.L⁻¹ for CLD, CLDOH, A2, 1,3,4,5-TeCB, dieldrin and aldrin (Tableau S3.9). Uncertainty was fixed at 30 % for all compounds.

4.6.2 BRGM protocol

BRGM adapted their previous LLE protocol from Mouvet et al. (2016). Briefly, 500 mL of sample were acidified to pH 2-3, and IS were added (¹³C₁₀-CLD and CLDOH-d). Samples were extracted two times with 50 mL of DCM. The extract was reduced by nitrogen stream and finalized with 0.5 mL of cyclohexane. Quantification of CLD, CLDOH, A1, and A2 was performed by GC-MS/MS. GC/MSMS analysis (MRM scan modes) was performed with an Agilent system (Les Ulis, France) composed of a GC 8890 gas chromatography apparatus equipped with a split-splitless inlet, a Combi Pal (CTC) autosampler and a 7010B MS triple quadrupole mass spectrometer. The injector was equipped with a 4×6.3×78.5 mm liner with fiberglass and Topaz™ deactivation. The compounds were separated on an Rxi-1MS (30 m, 0.25 mm ID, 0.25 μ m) column from Restek (Lisses, France). The key parameters of the method (linearity, repeatability, inter-day precision, specificity, extraction efficiency, and limit of quantification) were validated for CLD, CLDOH, and A2, in accordance with the NF T 90-210 standard method (AFNOR, 2018) based on carrying out tests under conditions of intermediate fidelity using natural samples. LOQs were estimated at 30 ng.L⁻¹ for CLD, CLDOH, A1, and A2 (Tableau S3.9). The uncertainty was 20 % for CLD and 30 % for A2 and CLDOH. BRGM is accredited by COFRAC (French Accreditation Committee) and works under ISO 17025 standard.

4.6.3 Genoscope protocol

LLE procedure was adapted from Chevallier and colleagues (2019). The final extract was divided into several portions in order to perform GC-MS analyses (SIM and full scan modes) as well as LC-HRMS analysis. Further information is provided in the Supplementary Material (Annexe 3. Supporting Methods).

5. Results and discussion

5.1 Choice of targeted organochlorines

In the FWI (Martinique and Guadeloupe), numerous OCPs have been used, in particular insecticides to control banana weevils: as early as the 1950s, technical-grade HCH began to be applied regularly; dieldrin and aldrin were then used, albeit to a lesser extent, finally replaced by lindane (γ -HCH) in the 1960s (Cabidoche et al., 2006; Landau-Ossondo et al., 2009). Strong resistance to all these OCPs eventually forced farmers to switch to CLD and massively apply this insecticide from 1972 until its definitive ban in 1993. A structural analog of CLD, mirex, was also used in Guadeloupe to fight leaf-cutting ants in the 1980s (Cabidoche et al., 2006) and was one of the contaminants in the commercial formulations of CLD applied in the FWI (Soler et al., 2014). Since regular monitoring of the FWI water resources began in 1998, CLD, dieldrin, and β -HCH were often found at concentrations exceeding environmental norms ($0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ or lower depending on OCPs) (Bonan & Prime, 2001; Rochette et al., 2017; Wintz & Pak, 2021; Taïlamé et al., 2023); the frequency and high levels of CLD making it by far the main contaminant of FWI hydric systems. In addition to CLD, we included the four major regioisomers of HCH (α , β , γ also known as lindane and δ), mirex, as well as dieldrin and aldrin (Figure 3.1).

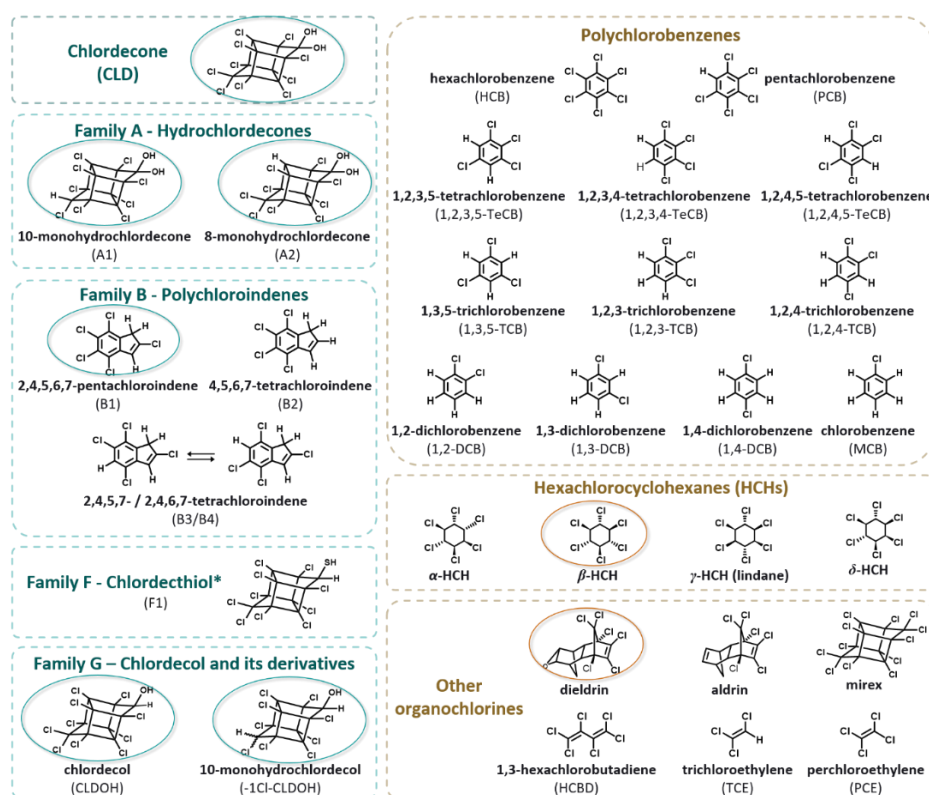


Figure 3.1. Representation of 31 targeted OCs. *: Chlordethiol, initially included in the set of OCs, was later excluded due to unsatisfactory results during SPME optimization; Surrounded compounds were detected in the 30 studied FWI environmental waters.

In the 2010s, two TPs of CLD, namely 8-monohydrochlordecone (5b-monohydrochlordecone; A2) and chlordecol (CLDOH), were added in the regular FWI monitoring as they were known contaminants of commercial chlordecone formulations (Curlone® and Kepone®) (Soler et al., 2014). Analyses have then demonstrated their regular presence in water samples, especially when high levels of CLD were observed (Cattan et al., 2019; Wintz & Pak, 2021). Recent results revealing the presence of other TPs of CLD (dihydroCLD, trihydroCLD, B1, B2, B3/B4, C1/C2, E1/E2) (Chevallier et al., 2019) in Martinique's river and mangrove waters called for expanding the list of monitored TPs in the FWI. Overall, given the fact that six out of the seven known families of CLD TPs could be detected by GC-MS, we chose this technique for our new analytical developments. As a result, TPs from family C, i.e. C1/C2 and C3/C4, only detectable by LC-MS, were excluded. The same applied to dihydroCLD, trihydroCLD, and E1/E2 previously found in environmental water (Chevallier et al., 2019) and excluded from the present study as they suffered from incomplete identification and/or not yet described synthetic access. Hence, a final set of eight TPs of CLD was retained: A1, A2, B1, B2, B3/B4, F1, CLDOH, and -1Cl-CLDOH (Figure 3.1).

Given the occurrence of HCH in the FWI environmental waters, we wondered about the possible presence of TPs resulting from HCH degradation. To date, no TPs of HCH are listed in the OCs targeted by the laboratories in charge of environmental monitoring. We therefore decided to include several known and commercially available TPs, namely 1,2,4-TCB, indicative of aerobic degradation and also 1,3-DCB, 1,2-DCB, and MCB products from anaerobic degradation pathways (Zhang et al., 2020). We also targeted hexachlorobenzene, detected in the blood of FWI population (Kannari study) (Dereumeaux et al., 2020), and we completed the series of polychlorobenzenes, as several of them are known to be formed by reductive dechlorination of HCB in soil (Brahushi et al., 2004). The developed SPME-GC-SIM-MS method was expected to be particularly well suited for volatile OCs, so we took the opportunity to include trichloroethylene (TCE), perchloroethylene (PCE), and hexachlorobutadiene (HCBD), which were not routinely monitored until then in the FWI. Altogether, the complete list illustrated in Figure 3.1 comprised 31 compounds representing OCPs, several of their TPs, as well as other OCs. Finally, we decided to carry out additional acquisitions in FS mode to scrutinize other possible isotopic fragmentation patterns characteristic of non-targeted chlorinated and brominated compounds.

5.2 Optimization of GC-SIM-MS method

Optimization of the GC method allowed the perfect chromatographic separation of 23 over 31 OCs studied (Figure 3.2). Retention times (Rt) for six compounds were found to be very close (HCBD/1,2,3-TCB, 17.97 min vs 17.98 min; α -HCH/HCB, 23.84 min vs 23.85 min; dieldrin/A2, 30.07 min vs 30.09 min), so we ensured that their selected quantifying and qualifying ions did not interfere. Finally, two TeCB regioisomers (1,2,3,5- and 1,2,4,5-TeCB) with overlapping peaks (19.05 min vs 19.07 min) and

the same fragmentation patterns turned out to be indistinguishable with the GC-SIM-MS method developed.

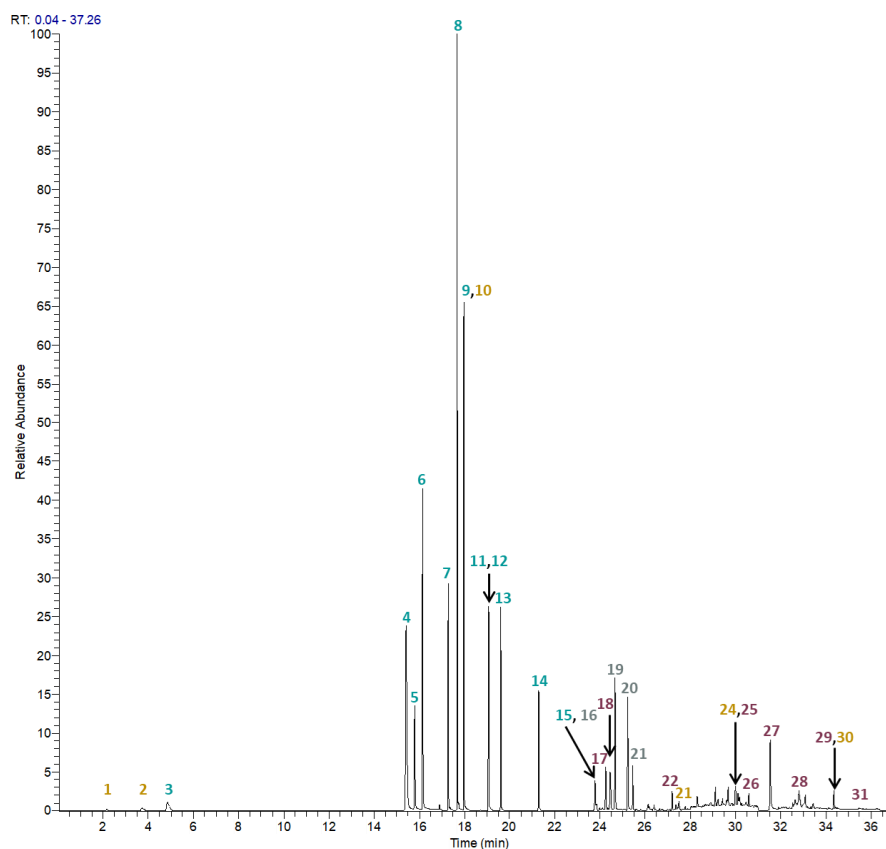


Figure 3.2. Total ion chromatogram obtained by SPME-GC-SIM-MS (not optimized method) of the targeted organochlorines at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ in water. For HCB and its TPs (blue): 3 = MCB; 4 = 1,3-DCB; 5 = 1,4-DCB; 6 = 1,2-DCB; 7 = 1,3,5-TCB; 8 = 1,2,4-TCB; 9 = 1,2,3-TCB; 11 = 1,2,3,5-TeCB; 12 = 1,2,4,5-TeCB; 13 = 1,2,3,4-TeCB; 14 = PCB; 15 = HCB. For HCH (grey): 16 = α -HCH; 19 = β -HCH; 20 = γ -HCH/lindane and 2 = δ -HCH. For CLD and its TPs (purple): 17 = B3/B4; 18 = B2; 22 = B1; 25 = A2; 26 = A1; 27 = CLD; 28 = -1Cl-CLDOH; 29 = CLDOH and F1 = 31. For others (yellow): 1 = TCE; 2 = PCE; 10 = HCB; 21 = aldrin; 24 = dieldrin and 30 = mirex

5.3 Optimization of SPME procedure

5.3.1 Comparison between direct immersion and headspace modes

SPME could be operated in two distinct modes: direct immersion (DI) and headspace (HS). HS mode usually offers a higher selectivity by reducing matrix effects and an increased lifetime of the fiber (Gionfriddo et al., 2015). However, it is limited to volatile and certain semi-volatile compounds. In their pioneering work on CLD quantification by SPME-GC-MS, Soler et al. (2014) used DI-SPME without mentioning any attempt with HS-SPME. We therefore decided to carry out a comparison between DI- and HS-SPME modes for CLD and several other semi-volatile compounds (A1, A2, B1, CLDOH, and mirex) adapting the protocol published by Soler et al. (2014). Results clearly demonstrated a higher efficiency of HS-SPME for the most hydrophobic compounds, B1 and mirex, whereas CLD, A1, A2, and CLDOH

were barely extracted by HS-SPME (Figure S3.29). Although mirex appears less volatile based on its molecular weight and later retention time, the formation of hydrogen bonds between the hydroxyl moiety of CLD, A1, A2, and CLDOH and water makes these molecules less prone to volatilization from an aqueous sample. Consequently, we retained the original approach of Soler et al. (2014) using direct fiber immersion.

5.3.2 Choice of SPME fiber

CLD and its main TPs were used for optimizing SPME parameters. Five commercial fibers were tested: two fibers in polydimethylsiloxane with varying thickness (PDMS, thickness 7 μm and 30 μm), one fiber in PDMS-divinylbenzene (PDMS-DVB, 65 μm), one fiber in acrylate (85 μm) and one fiber in carbon (95 μm). Extractions were performed in triplicate for CLD, CLDOH, mirex, B1, and F1 simultaneously at 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$. The general trend observed showed a higher response obtained with PDMS-DVB fiber for all compounds (Figure 3.3-a). The coupling between these two phases allowed the analysis of polar and volatile compounds (Burgot, 2019). Indeed, PDMS-DVB fiber was used by Soler et al. (2014) for CLD analysis. More generally, PDMS-DVB fiber was often selected for the analysis of OCPs, such as HCB, lindane, dieldrin, aldrin, and mirex (Gonçalves & Alpendurada 2004; Derouiche et al., 2007; Concha-Graña et al., 2010). Hence, to achieve high sensitivity for CLD and its TPs, while including a large range of OCPs, the PDMS-DVB fiber was chosen.

It is worth noting that F1 did not perform well in the fiber screening. The best result, which was obtained with PDMS-DVB fiber, yielded an intensity 130 times lower than that observed for CLD. Taking into account LOD previously obtained in SPME-GC-MS for CLD (35 ng.L^{-1}) (Soler et al., 2014) and the environmental concentrations for F1, expected at best in the range of 10-1000 ng.L^{-1} if similar to A2 (Wintz & Pak, 2021; Tailamé et al., 2023), we decided to exclude F1 from further developments.

5.3.3 Optimization of SPME parameters with PDMS-DVB fiber

An overview of the optimization pipeline could be found in Tableau S3.2. Firstly, extraction temperature was investigated at 40 °C, 60 °C, and 80 °C for CLD, A1, B1, and CLDOH. Results clearly demonstrated that extraction efficiencies were improved by increasing temperature for all compounds (Figure 3.3-b), thus confirming the initial observation made by Soler et al. (2014) on CLD. Derouiche and colleagues (2007) have observed the same trend for aldrin, dieldrin, and mirex, with the highest response at 80 °C too. However, for HCB and lindane, which are more volatile, they noted similar responses at both 60 °C and 80 °C (Derouiche et al., 2007). As a result, a temperature of 80 °C was set for further analytical developments.

Secondly, we optimized the extraction time of the SPME procedure using PDMS-DVB fiber incubated at 80 °C. In fact, the Thermo Fisher SPME-GC-MS system allows to carry out the extraction step on sample n+1 in a masking time, *i.e.* while sample n is being analyzed by GC-MS. Since the developed chromatographic method required around 40 min, we chose to test extraction times up to 40 min. As previously observed (Soler et al., 2014), results showed that a longer extraction time led to a significant increase in extraction efficiency (Figure 3.3-c). At that stage, we therefore retained an extraction time of 40 min. In comparison, Soler et al. (2014), who apparently could not use such a masking time, preferred a reduced 10-min extraction time to avoid any increase in analytical duration.

Thirdly, the desorption time parameter was optimized, and three durations were tested: 5, 15, and 25 min. While for B1, the best efficiency was achieved after 25 min, no significant differences were found for A1, CLD, and CLDOH between 15 and 25 min (Figure 3.3-d). In order to limit the total duration of the method, the time of desorption was finally set at 15 min.

Fourthly, the temperature of the fiber desorption was studied at three levels. A general trend was observed with better desorption at the highest temperature of 270 °C, except for B1, for which 250 °C might be slightly more favorable (Figure 3.3-e). To maximize the desorption of other compounds, 270 °C was chosen.

Modifying the ionic strength by adding a small amount of NaCl was reported to improve extraction yields for OCPs such as HCB and aldrin (Wang et al., 2019). However, other studies described a decrease in extraction yields for HCHs, aldrin, dieldrin, endrin, endosulfan, and DDT (Brondi & Lanças, 2005; Merib et al., 2013). Indeed, the addition of salts increases the ionic strength, possibly decreasing the solubility of compounds and facilitating their adsorption on the fiber. On the contrary, excess salt can produce a viscous resistance effect, blocking the diffusion of organic compounds to the fiber (Wang et al., 2019) and can also lead to an earlier deterioration of the fiber (Natangelo et al., 1999). To complete the optimization of SPME parameters, we evaluated the effect of NaCl addition up to 10 % (w/v). In the case of B1 and CLD, increasing the amount of NaCl salts significantly decreased the extraction performance, while no difference was observed for CLDOH and A1 with 0 % and 5 % NaCl loadings, 10 % of NaCl being deleterious (Figure 3.3-f). We therefore decided to avoid any addition of NaCl salts.

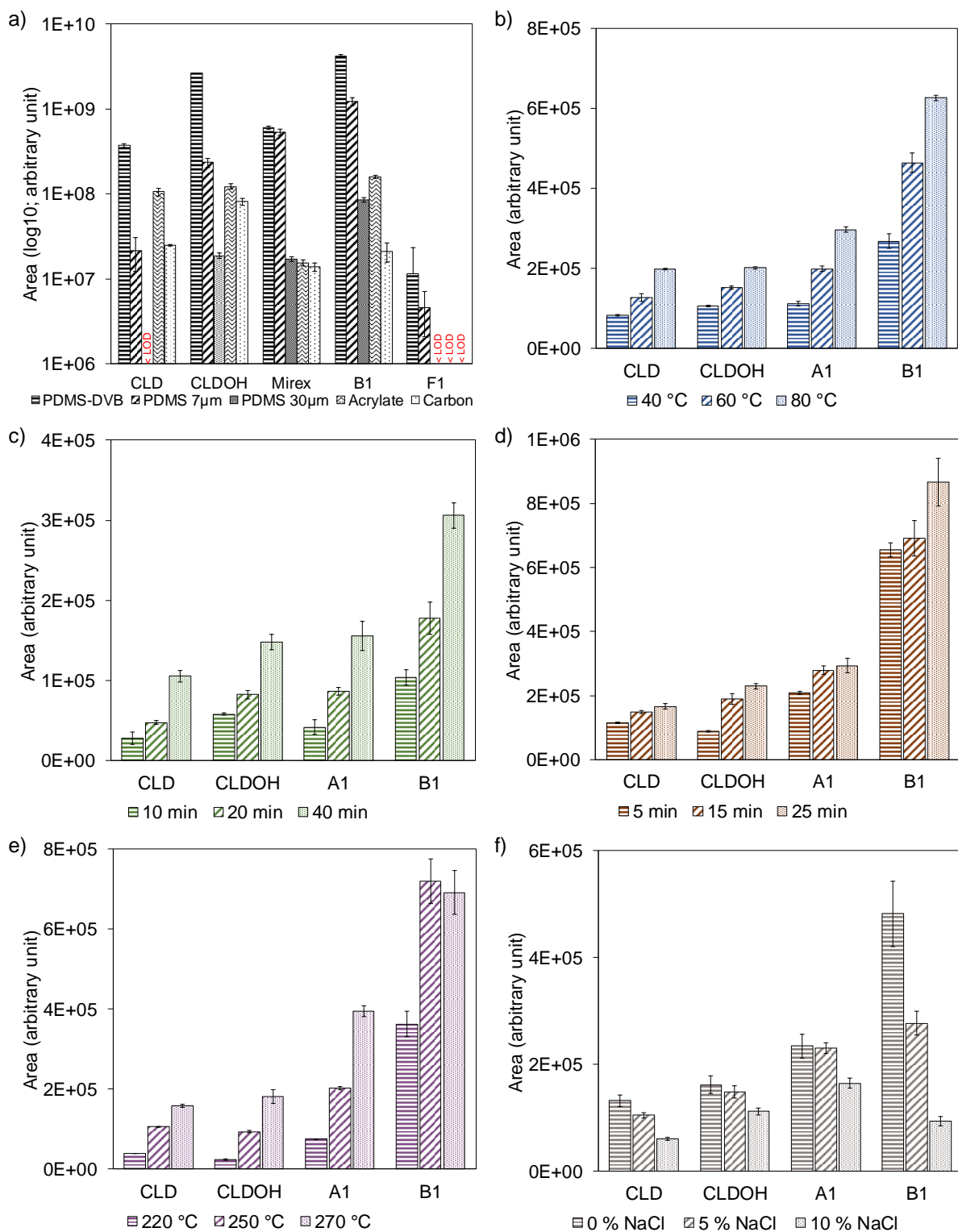


Figure 3.3. Responses in SPME-GC-SIM-MS for CLD and its derivatives with varying parameters: a) the SPME coating fiber (all concentrations set at $100 \mu\text{g.L}^{-1}$), b) the extraction temperature (all concentrations set at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$), c) the extraction time (all concentrations set at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$), d) the desorption time (all concentrations set at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$), e) the desorption temperature (all concentrations set at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$) and f) the addition of NaCl (all concentrations set at $1 \mu\text{g.L}^{-1}$). Error bars refer to standard errors ($n=3$), < LOD: not detected

5.3.4 Development of a cleaning method for the SPME fiber

CLD is a recalcitrant pesticide due to its physico-chemical properties and is known to adsorb strongly onto various materials such as organic matter or plastic (Woignier et al., 2013; Sandre et al., 2019). Soler et al. (2014) reported that a simple cleaning under a nitrogen stream for 30 min at 250 °C was sufficient to get rid of CLD adsorbed on the PDMS-DVB fiber. However, we observed a strong carryover after each CLD analysis that could not be easily eliminated even after introducing several blanks in the analysis sequence (Figure 3.4-a). Testing several solvents (methanol, isopropanol, and hexane) for fiber washing and modifying the thermal desorption parameters did not bring much improvement, so we had to examine other ways to remove CLD from the SPME fiber.

To achieve a satisfactory fiber cleaning, we based our strategy on the application of numerous blanks in between samples. We began by studying the nature of these inter-sample blanks. Indeed, the SPME efficiency for a specific compound relies on its equilibrium between the solution and the sorbent (Spiegel et al., 2010). Hence, adding a water-miscible solvent well suited to CLD could shift the equilibrium and thus enhance the release of CLD from fiber into the water-solvent mixture. For that, after the analysis of a 10- $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ solution of CLD, three independent vials composed of either water:methanol ($\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$; v/v; 50/50), water:isopropanol ($\text{H}_2\text{O}:\text{IPA}$; v/v; 50/50) or pure water were successively analyzed with the same method. Results displayed in Figure 3.4-b showed a slightly greater improvement in CLD elimination for the series containing $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ blanks, so this mixture was selected as an inter-sample blank and we proceeded with further optimization.

Next, we decided to reduce the analysis time of inter-sample blanks and developed a fast method dedicated to fiber cleaning. As changing the incubator temperature was very time-consuming, we left the incubator temperature at 80 °C and worked on the other SPME parameters to shorten the method while maintaining efficient performances in CLD removal. Several duration times were tested for the incubation, desorption, washing, and conditioning steps; modulation of the number of blanks was also made to never exceed a total time of 75 min for each series of inter-sample blanks (Tableau S3.8). It turned out that the number of blanks and the desorption time played the most critical roles. Taking into account the total run time, the overall abatement rate, and the absolute intensity of the remaining CLD signal, we selected the following fast method: 0.5-min incubation in $\text{H}_2\text{O}:\text{MeOH}$ at 80 °C, then 5-min desorption at 300 °C and finally, 0.5-min washing step in IPA followed by 0.5-min thermal conditioning at 340 °C in PTV injector in split mode (1:42); and applied it on eight successive blanks for an overall analytical time of 73.6 min (Tableau S3.8).

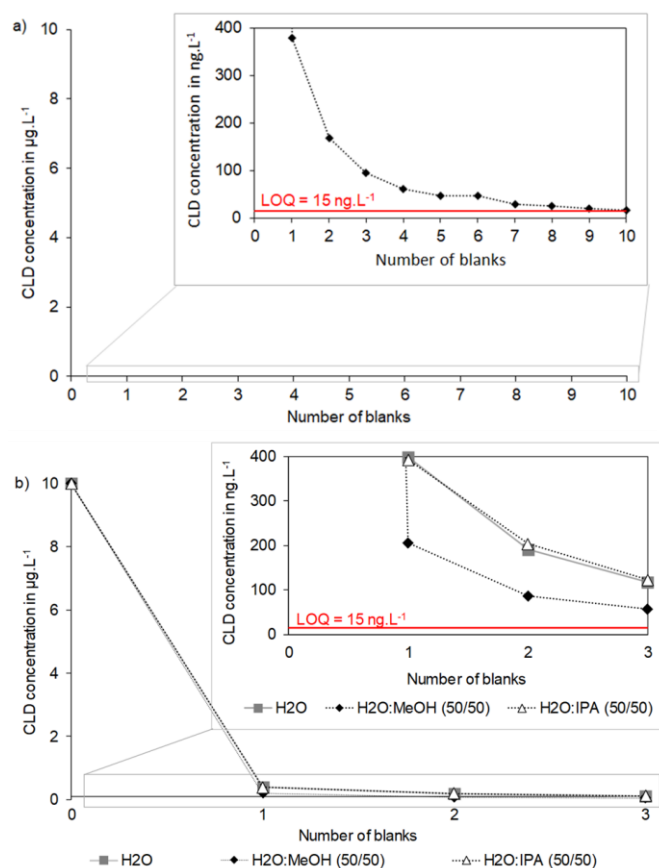


Figure 3.4. CLD carryover observed on the SPME fiber: a) carryover after an initial injection of CLD at 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (number 0) followed by blank samples (individual vials containing water:MeOH (50/50)) with the same method and b) effect of the composition of the blank samples on the CLD carryover.

The last optimization step consisted in determining the number of inter-sample blanks required to have a satisfactory fiber cleaning with the newly developed fast cleaning method. For that, a mixture of CLD and its TPs CLDOH, A1, and B1, representative of the main families of CLD TPs, was prepared and analyzed. Concentrations were set to mimic a highly contaminated environmental sample, *i.e.* 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for B1 and CLDOH, 0.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for A1, and 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ for CLD. Series of eight or fourteen blanks composed of H₂O:MeOH (50/50) were run with the fast method after the analysis of the initial sample. Lastly, in each case, a blank made of MilliQ water was analyzed with the normal method. While no difference in efficiency was observed between 8 and 14 blanks for removing CLDOH, A1 and B1 carryover, CLD, initially injected at a higher concentration, was better removed after 14 blanks (266-fold vs. 174-fold) (Figure S3.30). However, this improved removal was associated with a significant 43 % increase in run time. We found it less time-consuming to proceed as follows: 1. analyze in a row all environmental samples and group them into two categories, namely low and high CLD content; 2. perform the accurate analyses of each group using an adapted calibration curve and eight inter-sample blanks. As a precaution, we maintained fourteen blanks between the highest level of the calibration range and the following sample. A typical sequence is detailed in the supplementary material (Figure S3.26).

5.3.5 Choice of the internal standards

When commercially available, ^{13}C -labelled IS generally represents a significant cost. In addition, the use of numerous IS in environmental samples could mask compounds and limit the performance of the analytical method by increasing the number of ions or transitions to be monitored simultaneously. For these reasons, we tested and validated a unique IS, namely $^{13}\text{C}_6$ -HCB, for HCHs, HCB, PCB, TeCBs, and TCBS (Figure S3.25e-p). For HCBD, we worked in isotopic dilution with $^{13}\text{C}_4$ -HCBD (Figure S3.25s). While the other volatile compounds, i.e. DCBs, MCBs, PCE, TCE, were also corrected by $^{13}\text{C}_4$ -HCBD (Figure S3.25a-d and Figure S3.25r-s) and we chose PCB138 as IS for aldrin and dieldrin (Figure S3.25t-u).

Synthesis of CLD TPs labelled with ^{13}C isotope was not possible due to the high cost of the starting material ^{13}C -CLD. In the present study, $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD was only used for the quantification of CLD, monohydroCLDs (A1 and A2), and mirex (Figure S3.24a-d; Figure S3.25v). In our previous work on the biodegradation of CLD under methanogenic conditions, we showed that hexachlorobenzene and pentachlorobenzene gave a similar analytical response to that of B1 for the complex digestate matrix. At that time, we chose pentachlorobenzene as IS for practical reasons (Martin et al., 2023). None of these compounds could be used as IS in the present study since they belong to the list of targeted OCs. We thus opted for $^{13}\text{C}_6$ -HCB as IS for B1 and obtained a satisfactory calibration curve in SPME-GC-SIM-MS (Figure S3.24e).

Recently, Saint-Hilaire, Bertin et al. (2018) developed an LC-MS/MS method for quantifying CLDOH in urine using $^{13}\text{C}_8$ -CLDOH as IS. Due to the high cost and irregular commercial availability of $^{13}\text{C}_8$ -CLDOH, we imagined three alternative IS for CLDOH: monodeuteroCLDOH (CLDOH-d), previously synthesized by Fariss (1982) and used by BRGM for their routine analysis, 5-methylCLDOH (CLDOH-Me) and 10-monohydro-5-methylCLDOH (-1Cl-CLDOH-Me). Indeed, CLD, best represented as a gem-diol, is in equilibrium with a minor ketone form (Figure 3.5). CLD, with its carbonyl moiety, therefore, remains reactive towards chemical reduction and nucleophilic addition, as illustrated by the synthesis of several alcoholic analogs of CLD in the 1960s, e.g. CLDOH and the insecticide Kelevan (Gilbert et al., 1966). Hence, CLDOH-d was readily obtained in excellent yield after the reduction of CLD by NaBD_4 (Figure 3.5). In contrast, the addition of Grignard reagent CH_3MgBr onto CLD and A1 afforded CLDOH-Me and -1Cl-CLDOH-Me, respectively, in low yield (Figure 3.5).

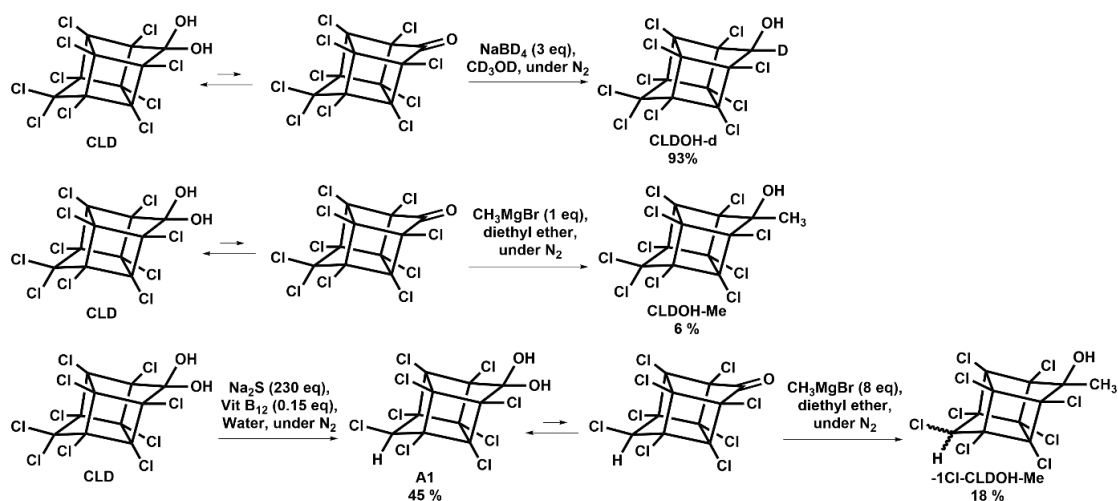


Figure 3.5. Chemical conditions enabling the synthesis of CLDOH-d, CLDOH-Me, and -1Cl-CLDOH-Me (Annexe 3. Supplementary Methods M3-5).

Electronic ionization of CLDOH generated the major fragment $[C_5Cl_4OH_2]^{+*}$, which allowed the monitoring of ion m/z 218 ($[^{12}C_5^{35}Cl_4OH_2]^{+*}$) as qualifying ion and ion m/z 220 ($[^{12}C_5^{35}Cl_3^{37}ClOH_2]^{+*}$) as quantifying ion (Tableau S3.3, Figure S3.21a and Figure S3.21c), for simulated and experimental patterns, respectively). At first glance, CLDOH-d would appear to be the best IS candidate. Notably, CLDOH-d led to an apparent similar fragmentation pattern as CLDOH, the main fragment $[C_5Cl_4OHD]^{+*}$ providing analogous ions at m/z 219 and 221, respectively (Figure S3.21b and Figure S3.21d, for simulated and experimental patterns, respectively). To go a step further with CLDOH-d, we needed to estimate the level of contamination of CLDOH in the batch of synthesized CLDOH-d. According to HRMS and NMR analyses, the presence of CLDOH was in the range of 4 % to 6 % (Figure S3.3c and Figure S3.4), which would have to be taken into account for the development of the SPME-GC-SIM-SM method. Furthermore, due to the low resolution of the GC-MS system, several ions from CLDOH fragmentation experimentally contributed to the signals observed at m/z 219 and 221 (Figure S3.21c), initially selected for the monitoring of CLDOH-d. Closer examination of the experimental isotopic pattern of $[C_5Cl_4OH_2]^{+*}$ also revealed the presence of $[C_5Cl_4OH]^{+}$ with ions at m/z 217, m/z 219 and m/z 221 (Figure S3.21c). From the simulation, we concluded that CLDOH gave rise to fragments $[C_5Cl_4OH_2]^{+*}$ and $[C_5Cl_4OH]^{+}$ in a ratio of 88:12 (Figure S3.21e). The full contribution of CLDOH to ions at m/z 219 and 221 thus came from ions $[^{12}C_5^{35}Cl_4OH]^{+}$, $[^{12}C_5Cl_3^{37}ClOH]^{+}$, $[^{12}C_4^{13}C^{35}Cl_4OH_2]^{+*}$ and $[^{12}C_4^{13}C^{35}Cl_3^{37}ClOH_2]^{+*}$. Overall, this demonstrated that the ions selected for the qualification and the quantification, on the one hand, m/z 218 and m/z 220 for CLDOH and, on the other hand, m/z 219 and m/z 221 for CLDOH-d, suffer significant interferences (> 10 % of the most intense signal) from ions of CLDOH-d and CLDOH, respectively. To definitely discard CLDOH-d as a possible IS of CLDOH, we studied the CLDOH vs CLDOH-d response in SPME-GC-SIM-MS and confirmed the non-linear relationship (Figure S3.23a).

After ruling out CLDOH-d, we focused on CLDOH-Me as a possible IS. From the main fragment $[C_6Cl_4OH_5]^{+*}$ of CLDOH-Me, we selected the most intense ion m/z 234 and confirmed the excellent linearity of the SPME-GC-SIM-MS response between CLDOH-Me and CLDOH (Figure S3.23b). However, the presence of the methyl group on CLDOH-Me induced a slightly longer retention time when compared with CLDOH (34.43 min vs. 34.33 min, respectively; Tableau S3.3), eventually resulting in a partial overlap with the signal of mirex (34.48 min; Tableau S3.4). Since CLDOH-Me and mirex shared the same fragment $[C_5Cl_6]^{+*}$ originating from the retro-Diels-Alder cleavage of the perchlorobishomocubane cage, CLDOH-Me could definitely not be used as IS. The last candidate -1Cl-CLDOH-Me, gave rise in electronic ionization to the main fragment $[C_6Cl_4OH_5]^{+*}$ with maximum intensity at m/z 234 (Figure S3.23a). Although -1Cl-CLDOH-Me was synthesized as an approximately 1:1 diastereoisomeric mixture according to LC-HRMS analysis (Figure S3.23c), it led to a unique sharp signal easily integrable in GC-MS (Figure S3.23b). Its retention time turned out to be very close to that of -1Cl-CLDOH, but its respective monitored ions were perfectly distinguishable (Tableau S3.3). SPME-GC-SIM-MS responses of CLDOH and -1Cl-CLDOH-Me satisfactorily correlated (Figure S3.23c) finally allowing -1Cl-CLDOH-Me to be chosen as IS of CLDOH and -1Cl-CLDOH.

5.4 Evaluation of the performances of the SPME-GC-SIM-MS method

5.4.1 CLD and its TPs

The performance of the SPME method was evaluated through the linearity, accuracy, relative standard deviation (RSD), LOD, and LOQ. Calibration curves were constructed with five levels of concentrations and the use of previously selected IS (Tableau S3.3). Excellent linearity in the SPME-GC-SIM-MS responses was obtained with correlation coefficients between 0.989 and 0.999 (Tableau 3.1). Accuracies ranged from 75 to 119 %, while RSD were found below 25 %, demonstrating the good performances of the SPME method for CLD and its TPs.

LOD and LOQ were estimated in the range of 3 to 5 $ng.L^{-1}$ and 9 to 15 $ng.L^{-1}$, respectively. Hence, we obtained a better sensitivity when compared to the analogous SPME-GC-SIM-MS method of Soler and colleagues (2014), who reported a LOQ of 80 $ng.L^{-1}$ for CLD. The difference in performance probably stems from the longer incubation time we chose compared to them (40 min vs. 10 min). Indeed, the use of an MS/MS method with a more advanced analytical system coupled with SPME enabled Soler and al. (2014) to reach an LOQ of 2.0 $ng.L^{-1}$ for CLD. LLE-based methods by BRGM (GC-MS/MS) and LDA26 (LC-MS/MS) led to LOQ close to the newly developed method (30 $ng.L^{-1}$ and 10 $ng.L^{-1}$, respectively) but required a larger sample volume, the use of organic solvent(s) for extraction and advanced facilities.

	Concentration levels (ng.L ⁻¹)	Accuracies (%)	RSD (%)	Retention time (min)	Linearity range (ng.L ⁻¹)	Coefficient of determination (R ²)	LOD (ng.L ⁻¹)	LOQ (ng.L ⁻¹)
CLD*	2,000	103	2	31.48	0-25,000	0.999	5.0	15.0
	12,500	94	6					
CLDOH	75.0	75	23	34.33	0-1,250	0.996	3.3	10
	380.0	101	24					
A1	25.0	119	24	30.41	0-270	0.997	3.3	10.0
	125.0	97	15					
A2	25.0	91	19	30.12	0-270	0.995	3.3	10.0
	125.0	94	18					
B1	25.0	109	22	27.16	0-270	0.989	3.0	9.0
	125.0	126	10					
-1Cl-CLDOH	25.0	77	5	33.13	0-270	0.996	3.3	10
	125.0	97	13					

Tableau 3.1. Performance criteria of the SPME-GC-SIM-MS method for CLD and its main TPs. RSD = Relative standard deviation. n = 3. *: for the lower environmental concentrations of CLD, a dedicated calibration curve ranging from 0-2,500 ng.L⁻¹ was used (R² = 0.997; Figure S3.24a)

5.4.2 Other OCPs

From the linear regression method, good linear responses (R² = 0.986-0.9998), accuracies (54-133 %), and RSD (4-56 %) were obtained for all studied OCs, except MCB, which showed lower R² (0.973) and higher RSD (61 %) (Figure S3.25; Tableau S3.7). LDA26 also targeted several of these compounds with LOQ ranging from 1 to 10 ng.L⁻¹, depending on the OCs (Tableau S3.9). Our estimated LOQ (Tableau S3.7) were slightly lower for all these OCs, the principle of SPME, *i.e.* selective adsorption onto the fiber enabling analytes to accumulate while limiting the extraction of interferences from the matrix. In the case of LLE, the concentration step prior to analysis increased both compounds concentrations and matrix interferences. Overall, these performances confirmed that the SPME-GC-SIM-MS could be used with confidence for the analysis of the listed OCs in environmental waters.

5.5 Application to environmental waters

5.5.1 Occurrence of chlordecone in environmental waters and comparison of the methods used for its detection

CLD was detected in all water samples from the two highly polluted FWI catchments. According to the results of the SPME-GC-SIM-MS method, CLD concentrations generally ranged in river water,

spring water, and well water from 0.2 to 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$, 4 to 8 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and 6 to 29 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectively, as previously observed in the historical survey (Charlier et al., 2015; Wintz & Pak, 2021) (Tableau S3.10). The data from the SPME-GC-SIM-MS method were compared with the concentrations obtained by the other methods (Figure S3.27). Good agreements were found with LLE protocols of Genoscope (LLE-GC-SIM-MS and LLE-LC-HRMS) (Tableau S3.10) and BRGM (LLE-GC-MS/MS) (Figure 3.6a). In particular, the error estimated by the SPME-GC-SIM-MS (standard deviation, $n = 2$) and the 20 % uncertainty of the BRGM method well explained the minor differences observed. On the contrary, a very strong divergence (3- to 10-fold ratios) was observed at high concentrations with the routine LLE-LC-MS/MS protocol applied by LDA26 (Figure 3.6b and Figure 3.6c). We empirically determined a threshold of 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$ that allowed a satisfactory agreement between LDA26 values and the other data sets.

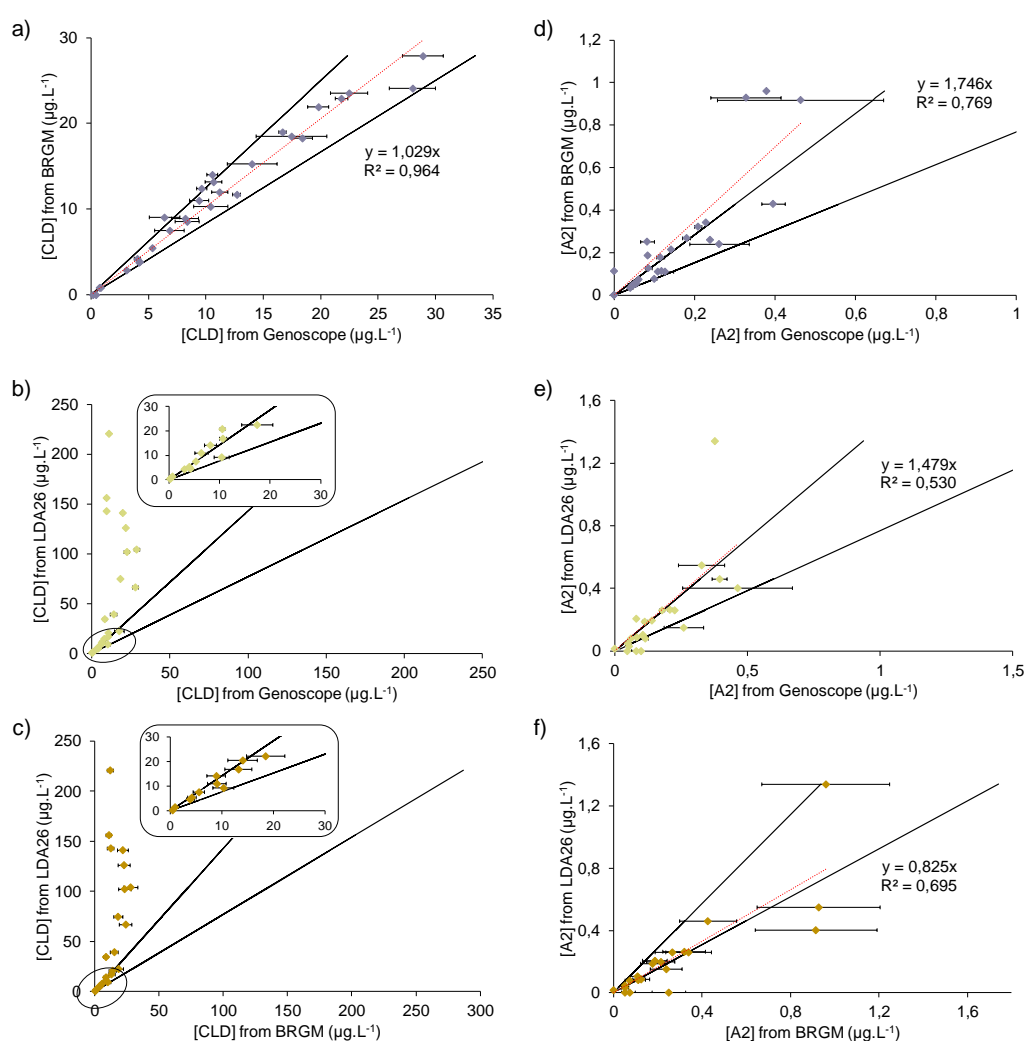


Figure 3.6. Comparison of concentrations in environmental waters obtained for: a) CLD for BRGM vs. Genoscope b) CLD for LDA26 vs. Genoscope, c) CLD for LDA26 vs. BRGM, d) A2 for BRGM vs. Genoscope, e) A2 for LDA26 vs. Genoscope and f) A2 for LDA26 vs. BRGM. Black lines correspond to an uncertainty of 20 % for CLD (a) and 30 % for A2 (d) for BRGM and 30 % for LDA26 (b,c, e, and f). Error bars correspond to the standard deviation for Genoscope ($n = 2$; a, b, d, and e) and the uncertainty of 30 % estimated for BRGM (c).

Values above the established confidence interval [0, 6 $\mu\text{g.L}^{-1}$] correspond to highly contaminated groundwaters. As part of the OPALE program, CLD pollution of these groundwaters has been monitored since 2015 (Tailamé et al., 2023). The results showed stable levels of very high contamination ranging from 1 to 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ depending on the well or spring water studied. The CLD concentrations obtained by Genoscope and BRGM are in good agreement with all historical measurements of these groundwaters, so we concluded that values of LDA26, especially the nine concentrations above 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$, were not relevant and should be discarded from further environmental studies.

One might suggest specific matrix effects arising in groundwaters, but we have excluded this hypothesis because the particulate fraction is absent from groundwaters, unlike surface water, which is subject to soil erosion deposits. Genoscope and BRGM focused on CLD and its TP and used $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD as an internal standard. In contrast, LDA26 applied a more general pesticide method (CMO_MT02) with several extraction markers as hexabromobenzene (HBB), triphenyl phosphate (TPP), and desisopropyl atrazine- d_5 (DIA- d_5) and added after extraction the internal standards 2,4-dichlorophenoxyacetic acid- d_3 (2,4-D- d_3) and atrazine- d_5 to correct LC-MS/MS analyses (Rochette et al., 2017). HBB, TPP, DIA- d_5 , 2,4-D- d_3 and atrazine- d_5 differ structurally from CLD, which bears a rare perchlorinated bishomocubane cage coupled to a seldom stable hydrated carbonyl moiety. Due to its physico-chemical properties, namely its hydrophobicity and preferential adsorption onto any organic matter, CLD is a particularly difficult molecule to handle and analyze. As the discrepancies between laboratories occurred after a threshold concentration, we suspected an inadequacy between tracers concentrations and CLD concentrations. It is worth mentioning that the high levels ($>$ several $\mu\text{g.L}^{-1}$) observed for CLD in groundwaters are well above the concentrations observed for other pesticides in environmental waters and can correspond to several thousand times the LOQ set for CLD by LDA26. Furthermore, one could not exclude that the combination of extraction and injection tracers structurally not related to CLD might not perfectly correct CLD signals over such a magnitude of concentrations. Hence, we suggest adding a dedicated internal standard for CLD quantification, ideally an isotopically-labelled molecule such as $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD or $^{13}\text{C}_8$ -CLD, at a level appropriate to the environmental concentrations expected (e.g. 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

5.5.2 Occurrence of chlordecol in environmental waters and comparison of the methods used for its detection

CLDOH was detected and quantified in 29 out of the 30 waters analyzed with the SPME-GC-SIM-MS method. Concentrations in surface waters and spring waters never exceeded 0.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, while well waters showed CLDOH concentrations ranging from 0.4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ up to 2.7 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Tableau 3.2). Comparison with BRGM and LDA26 results revealed wide disparities. LDA26, having the lowest LOQ (0.01

$\mu\text{g.L}^{-1}$), detected CLDOH only five times, whereas BRGM, with an LOQ of $0.03 \mu\text{g.L}^{-1}$, reported the presence of CLDOH 25 times out of the 28 water samples tested (Tableau 3.2). Furthermore, the five concentrations obtained by LDA26 did not match neither BRGM nor Genoscope results. For eight samples only, the 30% uncertainty of the BRGM protocol could explain the difference observed with the SPME-GC-SIM-SM method. In all other cases, BRGM concentrations were systematically lower than those obtained by the SPME-GC-SIM-MS method. However, these two methods agree on the high occurrence of CLDOH contrary to the routine method of LDA26, according to which CLDOH was not a recurrent contaminant in these series of environmental waters. The failure to detect and quantify CLDOH, if it were confirmed, could not simply be explained by the lack of appropriate internal standards, as was previously suggested in the case of CLD. Indeed, detection of CLDOH by LC-ESI(-)-MS using multiple reaction monitoring was found not so easy as CLDOH barely fragments under ESI conditions. Indeed, Saint-Hilaire, Bertin and colleagues (2018) used the transition m/z 498 \rightarrow 35 and the pseudo transition m/z 498 \rightarrow 498 for their analytical developments in urine. Finally, the authors obtained a 13-fold higher LOQ for CLDOH than for CLD in urine (1.3 vs $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$) (Saint-Hilaire, Bertin et al., 2018).

Significant differences in CLDOH concentrations between Genoscope and BRGM were observed for approximately 70 % of the water samples analyzed by the two laboratories. We excluded discrepancies at the extraction stage, SPME vs. LLE, as both methods yielded concordant concentrations of CLD, known to be particularly difficult to extract and handle. Indeed, the BRGM protocol differed in the use of tandem mass spectrometry and the choice of CLDOH-d as IS. The multiple reaction monitoring employed by BRGM is intrinsically more sensitive than the single ion monitoring applied by Genoscope. Nevertheless, the use of CLDOH-d as IS of CLDOH led to limitations as the fragmentation patterns, and consequently, the MS/MS transitions selected to monitor CLDOH and CLDOH-d overlap to some extent (Figure S3.21). To avoid this, BRGM systematically checked that the resulting CLDOH concentrations had no significant impact on the intensity of the CLDOH-d signal; if necessary, the sample was diluted and re-analyzed. In contrast, during the development of the SPME-GC-SIM-SM method, we preferred to switch to -1Cl-CLDOH-Me as IS (see Subsection 3.2.5). One alternative IS, albeit not regularly marketed, $^{13}\text{C}_8\text{-CLDOH}$, was successfully used by Saint-Hilaire, Bertin (2018) and Saint-Hilaire, Inthavong and colleagues (2018). In fact, its addition improved recoveries from 78 % to 102 %, to achieve a trueness of 10 % in liver matrix (Saint-Hilaire, Inthavong et al., 2018).

Inspecting the origin of the eight samples that showed good consistency between Genoscope and BRGM methods, we realized that all samples came from the second Guadeloupe campaign. Indeed, the trends of CLDOH concentration in the same location over the two sampling campaigns differed according to each laboratory. While Genoscope measurements indicated little fluctuations in CLDOH levels over time, BRGM results showed a significant increase in CLDOH concentrations in well waters

between spring/summer 2022 and autumn 2022 (Tableau S3.13). Overall, Genoscope analyses are indicative of the higher CLDOH levels observed for each well.

The discrepancies in CLDOH concentrations between Genoscope and BRGM might be due to minor differences in the sampling and homogeneous partitioning at each laboratory, the storage duration, and/or the final sub-sampling required to fit the extraction volumes of each method (20 mL vs. 500 mL (concentration lower 0.25 mg.L⁻¹) or 50 mL (concentration upper 0.25 mg.L⁻¹) for Genoscope and BRGM, respectively). CLDOH, being more hydrophobic than CLD, may be prone to greater adsorption and precipitation phenomena, notably in cold storage and in the presence of suspended particles.

		Genoscope SPME-GC-MS	BRGM LLE-GC-MS/MS	LDA26 LLE-LC-MS/MS
Martinique	River water			
	Grand Galion	0,04	na	nd
	Base de Loisirs	nd	na	nd
	La Digue	1,09	na	0,05
River water	Pérou_exutoire	0,10	nd	0,06
	Pères_80m	0,33	0,14	0,14
	Pérou_exutoire	0,08	0,04	na
	Saint-Denis	0,51	0,12	na
	Pères_80m	0,19	0,14	na
Spring water	Marigot	0,23	0,07	nd
	Captée	0,14	0,08	nd
	Marigot	0,23	0,15	nd
	Pérou	0,39	0,42	nd
	Captée	0,29	0,33	na
	Sarlaconne	na	nd	nd
Guadeloupe	Gendarmerie 1_1h	2,74	0,13	nd
	Gendarmerie 1_24h	1,38	0,14	nd
	Gendarmerie 1_48h	1,64	0,15	nd
	Boulangerie_1h_bis	1,98	0,82	na
	Boulangerie_1h	1,11	0,27	nd
	Boulangerie_24h	1,11	0,31	nd
	Fromager	0,89	1,06	na
	Lacavé 2_24h	0,89	0,19	nd
	Lacavé 2_48h	0,62	0,11	nd
	Lacavé 2_1h	1,17	0,17	nd
	Saint-Denis 2	0,40	0,08	0,02
	Gendarmerie 1	1,11	1,24	nd
	Gendarmerie 2	1,79	1,15	0,03
	Boulangerie	0,85	0,82	nd
	Fromager	0,89	0,74	nd
	Lacavé 2	0,57	0,51	nd
	Saint-Denis 2	1,50	0,65	nd

Tableau 3.2. Comparison of CLDOH concentrations (expressed in µg.L⁻¹) obtained by the three laboratories for the 31 environmental waters

5.5.3 Occurrence of 8-monohydrochlordecone in environmental waters and comparison of the methods used for its detection

The SPME-GC-SIM-MS method enabled the detection and quantification of 8-monohydrochlordecone (A2) in all groundwaters except one sample of Fromager well (first campaign), with concentrations varying from 0.055 $\mu\text{g.L}^{-1}$ to 0.463 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Analysis of river waters revealed the presence of A2 in four out of eight samples, with concentrations ranging from 0.039 to 0.066 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Tableau S3.12). As expected from previous observations (Cattan et al., 2019), the four river waters showing the absence of A2 correspond to the samples least contaminated with CLD (concentrations below 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Then, we compared A2 concentrations obtained by the SPME-GC-SIM-MS method and the LLE protocols (Figure 3.6d-f). Error deviations and uncertainties did not explain the observed discrepancies. Moderately good linear relationships were found for the correlations Genoscope vs. BRGM and BRGM vs. LDA26. In fact, for several water samples, the LLE-LC-MS/MS and the SPME-GC-SIM-MS methods failed to detect A2, whereas the LLE-GC-MS/MS applied by BRGM (with the higher LOQ of 30 ng.L^{-1}) did quantify it (Tableau S3.12). This also resulted in a weaker correlation between A2 concentrations measured by Genoscope and LDA26 (Figure 3.6d-e). Complementary LLE-GC-SIM-MS and LLE-LC-HRMS analyses by Genoscope were consistent with the levels of A2 concentrations previously found and included in the range of [0, 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$] but did not particularly agree with any of the other methods (Tableau S3.12). However, it is worth noting a systematic slight over/underestimation of A2 concentrations between laboratories: on average, BRGM concentrations were 1.75 times and 1.48 times higher than Genoscope and LDA26 concentrations, respectively (Figure 3.6d-f). It could be due to biases in the calibration curve used, including the quality of the A2 standard employed. Indeed, the commercialization of A2 (in solution in cyclohexane) has been interrupted for several years before being relaunched very recently. Thus, for the SPME-GC-SIM-MS developments as for previous works (Chevallier et al., 2019; Martin et al., 2023), the Genoscope laboratory decided to synthesize A2 in-house according to the literature (Wilson & Zehr, 1979). The high purity estimated by NMR of the synthesized A2 was recently confirmed by comparison with a commercial solution of A2. For the inter-laboratory trial, daily calibration curves, including A2 itself at five levels, bracketed the water samples to be analyzed (Figure S3.26). The quality of the A2 stock solution used for the calibration curve was regularly checked according to an in-house GC-FID procedure (Annexe 3. Supporting Method M9).

5.5.4 Occurrence of the other transformation products of chlordecone in environmental waters

10-monohydrochlordecone, A1, was detected by the SPME-GC-SIM-MS method in 22 out of the 30 samples analyzed, mostly in groundwaters. The very low concentrations observed, close to LOQ, were

systematically below those of CLDOH and A2, which were also present in the same samples. In fact, the greater sensitivity of the SPME method compared with the LLE-GC-MS/MS method (LOQ of 30 ng.L⁻¹) clearly explained why BRGM detected and quantified A1 in six water samples only (Figure S3.28; Tableau S3.11). Due to limitation in commercial standard A1, LDA26 did not include this TP in its list of targeted OCs (Tableau S3.9).

The SPME-GC-SIM-MS was also used to search four additional TPs, namely pentachloroindene B1, tetrachloroindenes B2 and B3/B4, and 10-monohydrochlordecol (-1Cl-CLDOH) which were not targeted by BRGM and LDA26. While B1 could scarcely be detected in two groundwater samples from the same well (Lacavé_2; Guadeloupe) (Tableau S3.15), -1Cl-CLDOH was quantified in one river water of Martinique and five groundwater samples of three wells (Gendarmerie_1, Gendarmerie_2 and Lacavé_2; Guadeloupe), albeit at very low level ranging from 0.012 µg.L⁻¹ to 0.056 µg.L⁻¹ (Tableau S3.14). In contrast, no trace of tetrachloroindenes B2 and B3/B4 were visible (Tableau S3.16 and Tableau S3.17). In fact, laboratory biodegradation experiments of CLD always led to low amount of these tetrachloroindenes, while pentachloroindene B1 systematically appeared as the predominant congener of this family of TPs (Chevallier et al., 2019; Hellal et al., 2021; Martin et al., 2023). In view of the very rare occurrence of B1, the total absence of tetrachloroindenes in environmental waters seemed logical. It should be noted that, when detected, B1 was only visible in the first analytical replicate, the second analysis being scheduled several weeks later. In our past prospective analytical campaign, during which B1 was detected at higher level in two samples of the Galion River (Martinique), the LLE protocol was applied immediately upon receipt of the water samples (Chevallier et al., 2019). Therefore, we wondered about the stability of B1 and other polychloroindenes in environmental waters under storage.

For each water sample, an additional SPME-GC-MS analysis with full scan acquisition was performed. Examination of this data set did not reveal any other TP included in our in-house library containing over 50 TPs of CLD (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020).

5.5.5 Occurrence of other organochlorines in environmental waters

In addition to CLD and its two TPs, A2 and CLDOH, many other OCs are regularly screened by LDA26 as part of the monitoring carried out by the OPALE observatory. The multi-residue method targeted both active substances and some of their metabolites, such as aldrin, dieldrin, HCHs (α , β , δ and γ), HCB, PCB, 1,2,3,4-TeCB, 1,2,4,5,-TeCB, 1,3,4,5-TeCB. To illustrate the interest in the developed SPME-GC-SIM-MS method, we chose these OCs, including lower chlorinated congeners of HCB and three volatile OCs (HCBd, TCE, and PCE) not yet searched for in the FWI, which are known legacy pollutants of environmental waters (Kong et al., 2020; Jin et al., 2022).

Among the list of 22 OCs targeted by the SPME-GC-SIM-MS method, only two were detected and quantified. The first one, β -HCH, was found in 7 river waters and 13 groundwaters at low concentrations ranging from LOQ to $0.246 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Tableau S3.19). β -HCH proved to be the most recalcitrant HCH among the four contained in the commercial formulation used in the FWI (Bhatt et al., 2009). The second OC detected, dieldrin, was visible exclusively in groundwaters at levels similar to β -HCH (Tableau S3.18). Comparing the results with those of LDA26 revealed several inconsistencies in the presence/absence of these two OCs. No particular trend, e.g. over/underestimation, could be concluded. We hypothesized that the very low concentrations estimated, close to the LOQ of both methods, may explain the observed discrepancies. The sporadic presence at low concentrations of these two legacy OC contaminants in FWI environmental waters was consistent with previous observations (Rochette et al., 2017; Wintz & Pak, 2021).

5.5.6 Relevance and added value of the present environmental campaign

Until nowadays, only one prospective campaign with a few environmental water samples has been carried out using a preliminary protocol allowing the detection of several CLD TPs not detected before (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020). The present environmental campaign applied to 30 environmental waters benefited from an accurate and reliable SPME-GC-SIM-MS method, which targeted CLD and seven TPs, four of which were not included in the regular monitoring performed in the OPALE observatory. Comparison with the reference method of LDA26 and the LLE-GC-MS/MS protocol developed by BRGM yielded interesting and unexpected results.

In the case of CLD, we found that the LDA26 method may overestimate the higher concentration values. Taking errors and uncertainty into account, CLD concentrations determined by Genoscope and BRGM never exceeded $35 \mu\text{g.L}^{-1}$, whereas nine water samples were found above $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ and up to $220 \mu\text{g.L}^{-1}$ by LDA26. Moreover, LDA26 obtained strong variations in CLD concentrations over hours, days, and months for the same wells (Boulangerie, Gendarmerie_1, and Lacavé_2; Tableau S3.10); these irregularities were not noted by the two other laboratories that did not detect any significant temporal difference for each well. Finally, we determined a confident concentration range $[0, 6 \mu\text{g.L}^{-1}]$, which led to good agreement between the three laboratories.

Historically, surface waters and groundwaters have been analyzed by LDA26 using its LLE-LC-MS/MS method. Although stable levels of pollution were usually observed (Voltz et al., 2023), with even a slight decrease in CLD concentrations over time for some river waters (Cattan et al., 2019), several high concentration peaks were sometimes reported. For river waters usually associated with low CLD concentrations in the range $[0, 6 \mu\text{g.L}^{-1}]$, these irregularities are certainly more frequently due to the consequence of hydrological phenomena such as seasonal fluctuations (Mottes et al., 2020). However, for

groundwaters, in the light of our results, and due to a higher regulation time of aquifer systems buffering physico-chemical evolutions, we propose to interpret the outlier concentrations as overestimated concentrations that are thus unlikely to have any particular environmental relevance.

Since the pioneering work of Devault et al. (2016), particular emphasis has been placed on A2/CLD concentration ratios to investigate CLD pollution and its presumed natural degradation (Cattan et al., 2019; Comte et al., 2022). However, CLDOH levels in FWI soils with concentrations at least ten times higher than those of A2 (Chevallier et al., 2019) have not attracted much interest. Indeed, CLDOH appeared to be as toxic as CLD according to the few toxicological studies available (Desaiah & Koch, 1975; Soileau & Moreland, 1983, 1988); it is also produced and excreted as a metabolite by several types of livestock exposed to CLD in the FWI (Saint-Hilaire, Bertin et al., 2018, 2021). The CLDOH/CLD concentration ratios that can be calculated for soils are consistent with the few percentages of CLDOH present in the commercial formulations of CLD (Kepone® and Curlone®) (Soler et al., 2014). Surprisingly, years of FWI environmental waters monitoring using the LDA26 method have consistently shown higher levels of A2 relative to CLDOH (Cattan et al., 2019; Wintz & Pak, 2021; Taïlamé et al., 2023; Voltz et al., 2023). It may be the result of many environmental phenomena, such as the contrasted mobilisation of the molecule from soil to leaching waters, but in the light of the inter-laboratory trial performed, we propose an additional explanation, namely a possible analytical bias minimising CLDOH concentrations in water samples. The suggested underestimation of CLDOH by LDA26 is also supported by: 1. the BRGM measurements, though not always in good agreement with Genoscope concentrations; 2. the detection of -1Cl-CLDOH for the first time in environmental waters. Indeed, -1Cl-CLDOH could be formed by the reduction of A1, like during the metabolization of CLD giving rise to CLDOH (Fariss et al., 1980), or by reductive dechlorination of CLDOH, similar to the conversion of CLD into A1 observed in microbiological degradations (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019).

When we examined the temporal average of OC pollution observed for each sampling site according to the newly developed SPME-GC-SIM-MS, we obtained a contamination profile that differed substantially from the FWI routine monitoring: while CLD systematically emerged as the main pollutant, albeit in slightly lower levels (Figure S3.27), the second largest contributor turned out to be CLDOH followed, in decreasing order, by A2, β -HCH, dieldrin and -1Cl-CLDOH (Figure 3.7). Higher CLD levels were generally correlated to the more frequent and more intense presence of CLD TPs, regardless of the type of environmental waters.

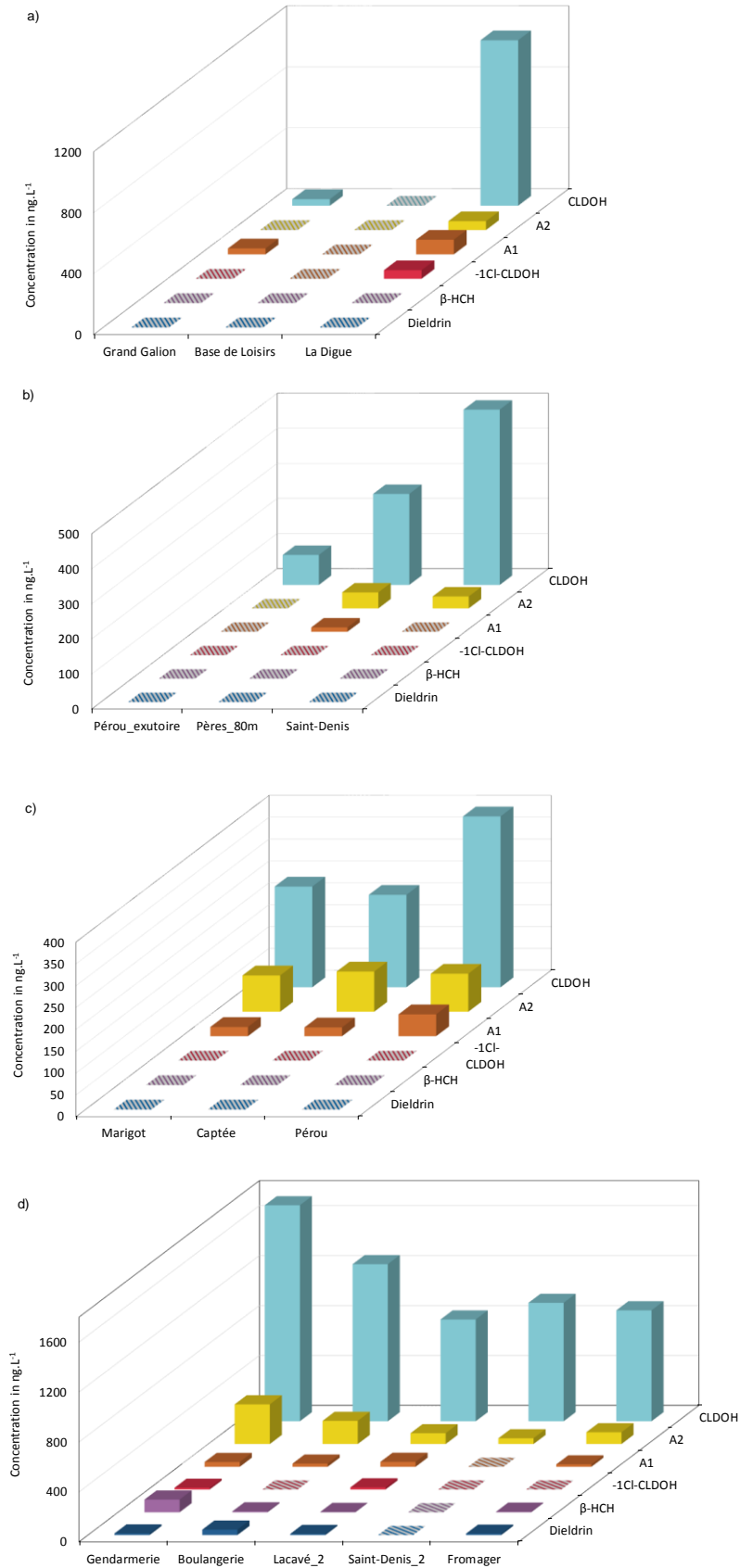


Figure 3.7. Time-average concentrations of CLD TPs and other OCs determined by SPME-GC-SIM-MS for: a) river waters from Martinique, b) river waters from Guadeloupe, c) spring waters from Guadeloupe and d) well waters from Guadeloupe. Shaded boxes indicate the absence of compounds (< LOD).

6. Conclusion

The regular monitoring of the FWI environmental waters carried out by the LDA26 laboratory for years has demonstrated the extent of pollution caused by CLD, by far the major organic pollutant of FWI waters. Two TPs of CLD, namely A2 and CLDOH, known contaminants of the commercial formulations of CLD, also belong to the short set of OCs found recurrently in surface waters and groundwaters of the FWI. In recent years, numerous other TPs have been reported to be formed during laboratory (bio)degradation of CLD and present in FWI soils. To facilitate and expand the monitoring of FWI environmental waters, we successfully developed a simple, robust, and green analytical protocol based on the SPME technique to analyze CLD, seven TPs, and several OCs. The satisfactory performance of the resulting SPME-GC-SIM-MS method enabled the detection of CLD, as well as five TPs (CLDOH, A2, A1, -1Cl-CLDOH and B1) and two OC insecticides, β -HCH and dieldrin in the 30 environmental waters studied. These results should modify the view of CLD pollution mainly focused on CLD levels and A2/CLD concentration ratios. Comparison of our results with those obtained by two other laboratories allowed the validation of the SPME-GC-SIM-MS method for the quantification of CLD. Several discrepancies between methods with presumed overestimates of CLD and underestimates of CLDOH for one laboratory call for intensified efforts to reliably quantify CLD and the maximum of TPs. We also emphasize the need to use IS ^{13}C -labelled and/or IS structurally related to the targeted compounds spiked at relevant concentration levels in order to obtain accurate and robust results. In the case of long-term pollutions such as CLD in the FWI, whose duration was estimated to range from several decades to several centuries (Cabidoche et al., 2009; Comte et al., 2022; Saaidi et al., 2023), the quality and the reproducibility of the analyses over many years are of paramount importance.

- Chapitre 4 - Recherche d'un protocole d'analyse pour étudier le devenir de la chlordécone dans les sédiments de la James River

Contribution de l'auteur :

Les sédiments de la James River ont été échantillonnés par le *Virginia Institute of Marine Science* (VIMS) et Oriane Della-Negra (PhD, thèse soutenue au laboratoire en 2020) en mission en 2019 aux États-Unis. La datation des carottes de sédiments a été réalisée par le VIMS.

J'ai réalisé l'ensemble des expériences nécessaires au travail de mise au point du protocole d'analyse dédié à la matrice sédiment :

- L'optimisation des paramètres QuEChERS : masse de sédiment, pH d'extraction, choix du solvant et des sels QuEChERS
- Les tests d'extraction/purification sur phase solide dispersive (d-SPE) : nature du sorbant
- L'optimisation de l'extraction sur phase solide (SPE) : nature des solvants de chargement et d'élution, quantité de sorbant et d'échantillon
- La micro-extraction sur phase solide (SPME) : utilisation du protocole précédemment mis au point pour les eaux de rivière et souterraines.

J'ai également réalisé toutes les analyses associées à ces étapes d'optimisation en GC-SIM-MS et ai traité les données sur XCalibur.

Pour la rédaction de ce chapitre, j'ai écrit la première version qui a ensuite été corrigée par Pierre-Loïc Saaidi et moi-même. J'ai également préparé l'ensemble des figures et tableaux, présents dans le texte et en annexe.

1. Introduction

La période d'activité de l'usine de production de la CLD, située à Hopewell (Virginie, États-Unis), s'est étendue de 1966 à 1975. D'abord rattachée à la société Allied Chemicals, elle est ensuite exploitée par la société Life Science Products de 1974 à 1975, qui intensifie la production de CLD (Epstein, 1978). Au total, environ 817 tonnes de CLD ont été produites par Allied Chemicals et quelques 770 tonnes par Life Science Products sur une période de huit mois seulement. Plusieurs formulations avec des quantités variables en CLD ont été commercialisées afin de lutter contre différents ravageurs (Epstein, 1978). Des manquements importants en matière de sécurité et d'hygiène ont conduit à la contamination des travailleurs de l'usine, entraînant plusieurs problèmes de santé tels que nervosité, tremblements, ataxie cérébelleuse, douleurs thoraciques, perte de poids et/ou oligospermie (Cannon et al., 1978). Cette contamination a diffusé dans l'environnement immédiat de l'usine mais a également touché la James River, fleuve dans lequel l'usine a déversé, via ses eaux usées, plusieurs dizaines de tonnes de CLD en quelques années. Des concentrations de près de 1.2 mg.kg^{-1} aux abords de l'usine et de plusieurs dizaines de $\mu\text{g.kg}^{-1}$ à plus d'une centaine de kilomètres ont été retrouvées (Trotman & Nichols, 1978). Grâce au processus de sédimentation naturel, la CLD s'est retrouvée piégée dans les sédiments et a été enfouie au fur et à mesure du temps. Ainsi, la contamination de l'eau et des espèces aquatiques a diminué au cours des années (Luellen et al., 2006; Unger & Vadas, 2017). La dernière campagne d'analyse réalisée en 2016 a montré des taux très bas de contamination chez les poissons. La vision « dynamique » de la pollution à la CLD avec la prise en considération de possibles PTs formés n'est apparue qu'en 2019 avec la détection significative de PTs, jusque-là inconnus, aux Antilles (Chevallier et al 2019). Aucun effort analytique n'a donc été mis en œuvre lors de la campagne d'analyse de la James River en 2016 pour rechercher d'éventuels PTs. Pourtant, les sédiments de ce fleuve présentent une singularité : ils offrent à la fois un environnement très anoxique et une microflore exposée à une forte quantité de CLD. Ce sont généralement dans des sites très pollués aux organochlorés qu'ont été découverts des bactéries déhalospirantes comme les souches *Dehalococcoides* sp. CBDB1 et *Dehalococcoides mccartyi* (Bunge et al., 2003; Löffler et al., 2013). Ces bactéries utilisent certains composés organochlorés pour récupérer de l'énergie grâce au processus de déchloration réductive. En fait, le dihydrogène (ou un autre donneur d'électrons) présent dans ces environnements anaérobies est utilisé par la bactérie pour remplacer un atome de chlore par un atome d'hydrogène sur le composé organochloré. Cela libère un ion chlorure et un proton dans le milieu intracellulaire de la bactérie. Via une pompe à protons membranaire, la bactérie récupère alors l'énergie sous forme d'une molécule d'adénosine triphosphate (ATP) (Holliger et al., 1998).

En raison de la forte affinité de la CLD pour la matière organique, le développement de méthodes d'extraction robustes et efficaces pour déterminer la teneur en CLD ainsi qu'en ses PTs dans les sédiments est anticipé comme difficile. Différentes méthodes d'extraction ont été référencées pour l'analyse de la CLD dans les sols et les sédiments. Historiquement, les méthodes d'extraction les plus utilisées étaient l'extraction Soxhlet et l'extraction liquide-liquide (LLE). La LLE a récemment été utilisée pour extraire la CLD (Martin-Laurent et al., 2014) et ses PTs (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020) avec du dichlorométhane (DCM). Bien que ces protocoles aient permis la détection de la CLD et de plusieurs PTs dans les sols et sédiments analysés, les faibles taux de récupération obtenus (Martin-Laurent et al., 2014) et les solvants toxiques employés ont restreint son utilisation. Aujourd'hui, la méthode couramment utilisée est l'extraction par solvant accéléré (ASE) (Amalric et al., 2006; Bristeau et al., 2012; Devault et al., 2016; Sabatier et al., 2021; Woignier et al., 2012). Utilisant un mélange hexane/acétone ou dichlorométhane/acétone dans une enceinte ASE sous pression et chauffée à haute température, ces protocoles ont permis d'obtenir des rendements d'extraction élevés (> 70 %) pour la CLD. Cette technique d'extraction a également été utilisée comme méthode de référence par le LDA26 (La Drôme Laboratoire), accrédité COFRAC et travaillant sous la norme NF17025. Afin de disposer d'une méthode plus verte, Soler et collègues (2014) ont proposé un protocole s'appuyant sur la micro-extraction sur phase solide (SPME) de la CLD dans les sols. Cependant, l'extraction des sols nécessite des précautions pour éviter d'endommager la fibre avec les particules en suspension présentes suite à la mise en contact du sol avec de l'eau. L'expérience pratique acquise lors du développement de la méthode SPME-GC-SIM-MS pour l'analyse des eaux environnementales (Chapitre 3) a confirmé la fragilité des fibres SPME.

La méthode QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*), initialement développée pour l'analyse des aliments, a été adaptée à l'analyse des polluants dans le sol (Anastassiades et al., 2003). Cette technique est couramment utilisée pour l'analyse des composés organochlorés (OCs) dans les sols et les sédiments. La plupart des protocoles d'extractions QuEChERS ont été réalisés à l'aide d'acétonitrile (ACN) (Santana-Mayor et al., 2019). Cependant, une étude portant sur des sols pollués a montré que le DCM conduisait à des taux de récupération plus élevés pour les chlorobenzènes ainsi que les chloroalcanes et chloroalcènes à courte chaîne (Rouvière et al., 2012). Les rendements obtenus avec ces méthodes pour les OCs, rendent le protocole d'extraction QuEChERS adapté à ce type de matrice. Pour l'analyse de la CLD et ses PTs, la méthode QuEChERS a récemment été adaptée à plusieurs matrices. Les taux de récupération satisfaisants obtenus pour la CLD et le CLDOH dans les matrices d'origine animale (52-102 %) (Martin et al., 2020; Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018; Saint-Hilaire, Inthavong, et al., 2018) et dans les digestats de méthaniseur (Chapitre 2), indiquent que la méthode QuEChERS peut être parfaitement adaptée à l'analyse de la CLD et de ses PTs.

L'objectif principal de ce travail a donc été de mettre au point une méthode analytique pour rechercher la CLD ainsi que d'éventuels PTs dans les sédiments de la James River. Contrairement aux expériences de dégradations méthanogènes du chapitre 2 où les concentrations en CLD choisies étaient très élevées, ici, l'enjeu principal a été d'atteindre une sensibilité compatible avec les concentrations très basses attendues, de l'ordre, voire en dessous, du $\mu\text{g.kg}^{-1}$ avec un équipement de type GC couplé à un spectromètre de masse équipé d'un simple quadripôle. L'extraction via un protocole QuEChERS a été choisie sur la base de l'expérience que j'avais déjà acquise (Martin et al., 2020; Martin et al., 2023) et du fait de la non-disponibilité au laboratoire d'un équipement de type ASE.

2. Prélèvement des sédiments

En 2019, six carottes de sédiment ont été prélevées dans le lit de la James River par le Virginia Institute of Marine Science (VIMS, Virginie, États-Unis) dans le cadre de la mission d'Oriane Delle-Negra (PhD, thèse soutenue au laboratoire en 2020). Les emplacements ont été choisis à des points stratégiques connus pour avoir reçu une grande quantité de CLD et ne pas avoir été soumis à une sédimentation excessive, c'est-à-dire supérieure à trois mètres depuis les années 1970, période de pollution de la James River. En effet, le dispositif de prélèvement des carottes de sédiment ne permettait pas d'extraire au-delà de cette profondeur. Certaines zones ont également été écartées du fait des possibles perturbations de la sédimentation dues au passage de cyclones ou à l'usage de filets de pêche (Figure 4.1, Tableau S4.1). Une fois prélevées, les carottes de sédiments ont immédiatement été divisées en plusieurs dizaines de sections de 4 cm d'épaisseur. Une partie des sections a été utilisée pour la datation radio-isotopique du césium 137 (^{137}Cs) par le VIMS. L'autre partie des sections a été envoyée au Genoscope afin de réaliser les analyses chimiques (Tableau S4.2). Les carottes sédimentaires ont été stockées dans des flacons en verre vissés et conservés à 4 °C dans l'obscurité avant analyse.

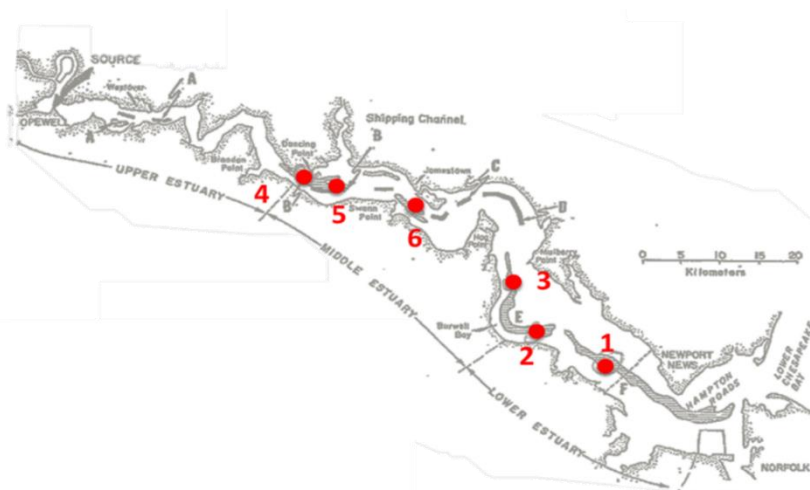


Figure 4.1. Localisation des prélèvements des carottes de sédiments dans l'estuaire de la James River (Virginie, États-Unis).

3. Protocole d'extraction LLE historique du Genoscope

Au Genoscope, les expériences antérieures de dégradations microbiologiques et chimiques de la CLD ont permis d'identifier plusieurs produits de transformation. À la suite de leur caractérisation, des analyses environnementales ont été entreprises pour rechercher ces composés dans diverses matrices environnementales antillaises (Chevallier et al., 2019). Un protocole d'extraction liquide-liquide a notamment été mis au point pour extraire la CLD et ses PTs dans les sédiments de mangrove (Chevallier et al., 2019). Ce protocole consistait à extraire 4 g de sédiments, préalablement réhydratés dans 15 ml d'eau suivi de douze extractions successives avec 15 ml de dichlorométhane à pH acide. Les analyses avaient alors été réalisées en GC-MS et en LC-HRMS. Certaines performances analytiques avaient été estimées dont les rendements d'extraction (dans les sols, 52-64 % pour CLD, 65-94 % pour B1). Des courbes de calibration ont été réalisées pour CLD, CLDOH, A1, B1, C1-C2 et C3-C4 afin d'avoir un estimatif de la concentration de ces composés dans les échantillons réels. Lors des analyses de ces échantillons, aucun étalon interne n'a été utilisé et les courbes de calibration ont été établies en solvant, ne prenant pas en compte les effets matrice sur les composés. Ces premiers résultats ont surtout permis de mettre en lumière la présence de ces composés aux Antilles. Les concentrations obtenues doivent être interprétées plutôt comme des ordres de grandeur comme cela a été fait dans l'article de Chevallier et collègues (2019), notamment avec l'utilisation d'histogrammes en échelle logarithmique. Au démarrage de ma thèse, de nouveaux développements analytiques étaient donc nécessaires afin d'améliorer et de faciliter la détection et la quantification des PTs. Ces nouveaux outils d'analyse pourront permettre de mieux appréhender l'état global de la pollution.

Afin de me familiariser avec la manipulation et l'extraction des PTs de la CLD dans les matrices environnementales, j'ai tout d'abord appliqué ce protocole LLE. Cela m'a permis de mieux objectiver le besoin de développer un protocole moins chronophage, plus robuste et plus vert. J'ai aussi pu mieux apprécier le comportement analytique particulier de certains PTs et garder ces éléments pour les développements analytiques ultérieurs. J'ai ainsi réalisé des extractions LLE sur deux sédiments de mangrove de Martinique afin de rechercher le chlordécthiol (F1). Ce composé obtenu par dégradation microbiologique de la CLD en présence de la bactérie *Desulfovibrio* sp. 86 venait d'être découvert et identifié par Oriane Della-Negra en 2019. Les analyses métagénomiques ayant montré dans les sédiments de mangrove une surreprésentation de bactéries sulfato-réductrices, analogues à la bactérie *Desulfovibrio* sp. 86, la présence de F1 dans ces sédiments était soupçonnée. Afin de favoriser la détection de ce composé, le protocole a été adapté. Pour cela, une quantité plus importante de sédiment (10 g vs. 4 g) a été extraite par dix extractions successives avec un volume plus important (50 ml vs. 15 ml de DCM) à pH acide (Figure S4.1). Le choix d'une prise d'essai plus importante a permis d'augmenter la quantité de composés

extractibles tout en limitant les éventuelles hétérogénéités de cette matrice, non séchée, ni tamisée. Dans ce cas, les interférents matriciels sont eux-aussi plus nombreux et peuvent avoir un effet négatif sur l'analyse tel une suppression ou une augmentation du signal. Des analyses GC-MS ont été réalisées à la suite de l'extraction. Les résultats ont montré la présence de F1 dans ces deux sédiments de mangrove avec des concentrations de l'ordre de 20-50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ces résultats ont été inclus dans la publication parue dans *Scientific Reports* (Della-Negra et al., 2020) (Annexe S4.2).

Comme nous le verrons ultérieurement dans la partie 4.1, la datation radio-isotopique a montré que la carotte n°6 n'avait pas le profil de sédimentation attendu. Des événements particuliers (cyclone ou pêche) ont dû mélanger différentes strates de sédiments. Nous avons voulu savoir si cette carotte était exempte de CLD et de PTs afin de l'utiliser comme matrice blanche. Pour cela, nous avons appliqué le protocole LLE précédent pour extraire et analyser les 15 sections de la carotte n°6 en GC-MS. Ni la CLD, ni aucun PT n'ont été détectés ce qui a permis de retenir cette matrice pour les futurs développements analytiques. Ce travail sur une campagne d'échantillons plus importante (15 échantillons de la carotte n°6 versus 2 échantillons de sédiments de mangrove) m'a permis de prendre conscience de la pénibilité de ce protocole. À la suite de ces expériences, plusieurs autres inconvénients ont été mis en évidence. Ce protocole LLE représente un coût élevé en termes de temps-opérateur (4 extractions par personne en une demi-journée au maximum, avec des étapes de lavage de la verrerie importantes), et de consommation de solvants, qui plus est, toxique comme le DCM considéré comme carcinogène pour l'Homme (Schlosser et al., 2015). La LLE peut également être inconfortable pour l'expérimentateur due aux gestes répétés qu'elle engendre (agitation manuelle d'une ampoule à décanter). Le développement d'un nouveau protocole analytique utilisant une autre méthode d'extraction était donc requis pour mener à bien ce projet. Pour obtenir des quantifications plus fiables que celles obtenues sur les sédiments (Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020), des étalons internes, à définir, devaient être utilisés.

4. Préparation des échantillons

4.1 Détermination des profondeurs à analyser à partir de la datation des sédiments

Un radionucléide est un isotope radioactif instable d'un élément chimique capable de se désintégrer en un autre. L'uranium 238 (^{238}U) est présent à l'état naturel dans le sol et le sous-sol de la Terre. Faiblement radioactif, il possède une abondance naturelle de 99.3 %. Son isotope ^{235}U , abondant à 0.7 %, se désintègre spontanément en plusieurs autres éléments formant une chaîne de désintégration jusqu'au plomb 206, élément stable. Ainsi, plusieurs éléments relativement stables vont se retrouver dans l'environnement tels le radon 226, le plomb 220, le polonium 210 ou le bismuth 210 (Sutton et al., 1993).

En raison de son pouvoir de désintégration, l'uranium 235 a été l'élément principalement utilisé dans les premiers essais de bombes nucléaires au début des années 1950 aux États-Unis (Langham & Anderson, 1959). Produits de fission de l'uranium, le césium 137 (^{137}Cs) et le plomb 210 (^{210}Pb) ont ainsi été introduits artificiellement dans l'environnement. Une contamination importante a notamment été recensée en 1963, touchant l'estuaire de la James River à la suite d'un essai nucléaire (Zucker et al., 1984). Ces éléments radioactifs se lient préférentiellement à la matière organique et aux argiles minérales contenues dans les sols et les sédiments (Schulz et al., 1960). Ainsi, la distribution verticale du ^{137}Cs dans les carottes sédimentaires peut être corrélée avec les taux de sédimentation (Wong & Moy, 1984) et est devenue un outil géochronologique.

La contamination de la James River par la CLD s'est produite durant les années 1970. La corrélation entre le ^{137}Cs et la CLD a déjà été étudiée (Cutshall et al., 1981; Nichols & Cutshall, 1981). Leur quantification dans les sédiments a conclu à un enfouissement rapide de la CLD avec des taux de sédimentation très élevés allant de 10 à 20 $\text{cm}\cdot\text{an}^{-1}$ par endroit (Cutshall et al., 1981). La CLD, adsorbée sur les sédiments à grains fins, a été transportée tout au long de la James River et s'est accumulée au milieu de l'estuaire, où la turbidité est la plus élevée (Nichols & Cutshall, 1981). Ainsi, la CLD et le ^{137}Cs devraient se trouver à des profondeurs relativement proches.

Une datation des sédiments a été réalisée par le VIMS afin d'estimer les profondeurs de présence de la CLD par le dosage du ^{137}Cs dans les carottes. Nous pouvons observer que le pic de ^{137}Cs est présent à des profondeurs différentes en fonction de la carotte (Figure 4.2). La radio-datation montre que la sédimentation a été réellement plus importante pour les carottes n°3 et n°4 avec des taux de sédimentation de l'ordre de 3 $\text{cm}\cdot\text{an}^{-1}$. Pouvant être relié à l'année 1963, ce pic se situe à faible profondeur (~50 cm) pour les carottes n°2 et n°5, tandis qu'il est plus profond (> 100 cm) dans les carottes n°3 et 4. La carotte n°1, quant à elle, présente un pic très proche de la surface. Enfin, la datation de la carotte n°6 s'est révélée infructueuse avec une désintégration par minute considérablement plus faible que pour les autres carottes (Figure 4.2f).

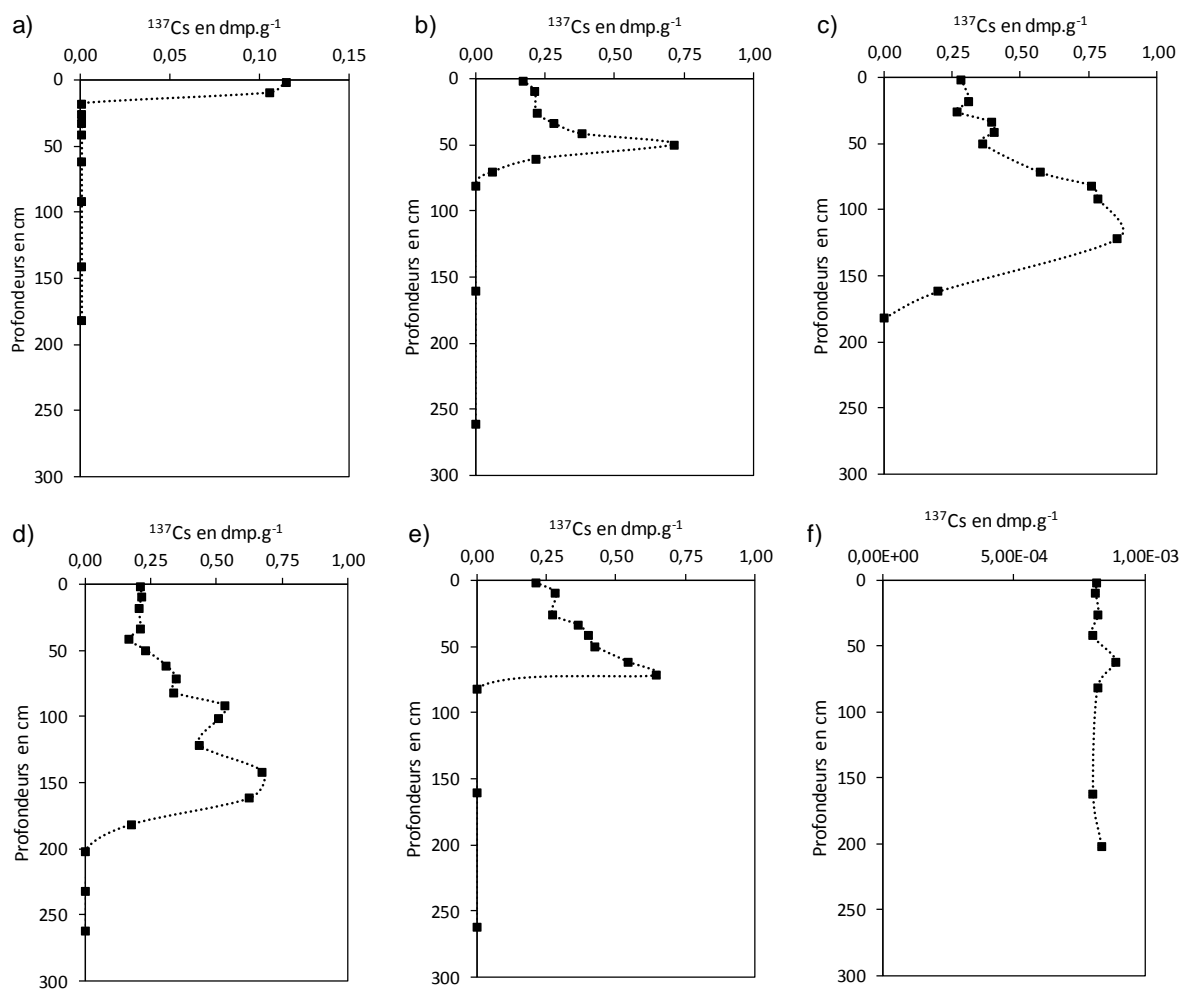


Figure 4.2. Datation des sédiments par le dosage du ¹³⁷Cs dans les différentes profondeurs des six carottes : a) carotte n°1, b) carotte n°2, c) carotte n°3, d) carotte n°4, e) carotte n°5 et f) carotte n°6. dmp : désintégration par minute (1/60 Bq).

La CLD déversée après la contamination au ¹³⁷Cs, devrait normalement se situer juste au-dessus du pic du ¹³⁷Cs. Afin de limiter le nombre d'échantillons à analyser, les plus profondes sections, situées nettement en dessous du pic du ¹³⁷Cs n'ont pas été incluses dans les analyses chimiques (Tableau 4.1), constituant un ensemble de 42 échantillons à analyser. Après vérification de l'absence de CLD et PTs dans la carotte n°6, nous avons donc décidé de l'utiliser comme matrice de travail pour le développement analytique.

Carotte n°1	Carotte n°2	Carotte n°3	Carotte n°4	Carotte n°5
1-000-004	2-000-004	3-000-004	4-000-004	5-000-004
1-016-020	2-016-020	3-016-020	4-016-020	5-016-020
1-032-036	2-032-036	3-032-036	4-032-036	5-032-036
1-048-052	2-048-052	3-048-052	4-048-052	5-048-052
	2-060-064	3-060-064	4-060-064	5-060-064
	2-070-074	3-070-074	4-070-074	5-070-074
		3-080-084	4-080-084	5-080-084
		3-090-094	4-090-094	5-090-094
		3-100-104	4-100-104	
		3-120-124	4-120-124	
		3-140-144	4-140-144	
		3-160-164	4-160-164	

Tableau 4.1 Sections des différentes carottes de sédiments retenues pour être analysées suite à la datation du ^{137}Cs .

4.2 Préparation de la matrice de travail

Dans les études de sols et de sédiments, les concentrations sont exprimées en poids secs de l'échantillon (Clostre, Lesueur-Jannoyer, et al., 2014; Levillain et al., 2012). L'échantillon est séché avant son extraction afin de limiter les variations entre la masse réelle de matrice et sa masse brute, due aux différents niveaux d'hydratation inter-échantillons pouvant exister. Cela permet également d'homogénéiser l'échantillon. Pour certaines méthodes d'extraction, le séchage et/ou la lyophilisation des échantillons sont requis comme dans le cas de l'ASE, où un agent séchant tel que la terre diatomée ou le sulfate de sodium peut même être ajouté afin de maximiser l'élimination de l'eau de l'échantillon (Giergielewicz-Możajska et al., 2001; Rouvière et al., 2012). Cependant, des composés thermolabiles et/ou volatils peuvent être affectés par ces étapes. Parmi les composés ciblés, certains sont volatils comme les composés de la famille B. Pour ces raisons, et afin de ne pas engendrer une perte d'information, nous avons choisi de ne pas sécher l'échantillon avant son extraction. Cependant, l'évaluation de la quantité d'eau présente dans chaque section des carottes devra être réalisée afin de déterminer la différence entre la masse brute et la masse de l'échantillon séché, de manière à exprimer les concentrations en masse sèche d'échantillon ce qui permettra d'exprimer les concentrations en poids sec d'échantillon et ainsi effectuer une comparaison avec les études antérieures.

Les sections des carottes de sédiment que nous avons sélectionnées pour les analyses chimiques comprennent des profondeurs allant jusqu'à 164 cm et un nombre de sections variant de 4 à 12. Des différences dans l'apparence et la viscosité de chaque profondeur sont clairement visibles. Pour une question de temps et de praticité, il n'a pas été possible d'optimiser les différents paramètres du protocole d'extraction pour chaque profondeur. Sur des carottes de sédiment de 1.13 m (Martinique) et 1.33

m (Guadeloupe) de profondeur, Sabatier et collègues ont évalué les effets matrices de leur protocole sur les sections les plus profondes où la concentration en CLD et CLDOH était inférieure à leur limite de détection (Sabatier et al., 2021). Nous avons supposé que les étalons internes corrigeront ces perturbations. De là, j'ai constitué une matrice de travail composite en mélangeant plusieurs sections de profondeurs variées appartenant à la carotte sédimentaire n°6. Même si nous avons déjà effectué une analyse avec le protocole LLE précédemment développé au Genoscope, nous avons voulu réaliser une deuxième analyse préliminaire de chaque section de la carotte n°6 en utilisant un protocole QuEChERS non optimisé issu des travaux de Saint-Hilaire, Bertin et al. (2018) et du Chapitre 2. Nous nous sommes arrêtés à la profondeur de 164 cm qui correspondait à la profondeur maximale retenue pour les autres carottes (Tableau 4.1). La SPME permettant de concentrer efficacement l'échantillon (Chapitre 3), nous avons décidé d'introduire cette étape supplémentaire dans la séquence d'analyse. Au final, ceci nous a conduit à appliquer un protocole non optimisé QuEChERS-SPME-GC-SIM-SM sur les douze premières sections de la carotte n°6. Les résultats ont confirmé la meilleure sensibilité de ce protocole non optimisé par rapport au protocole LLE initial. Nous avons, en effet, pu détecter du CLDOH à l'état de traces dans quatre sections (Tableau S4.4). Nous avons aussi eu confirmation de l'absence de CLD et d'autres PTs dans la carotte n°6. Finalement, les huit sections exemptes de CLDOH ont été sélectionnées pour constituer la matrice composite de travail.

Même si cela devra être confirmé dans les autres carottes avec la méthode analytique finale, la présence de CLDOH et l'absence de CLD, sont à mettre en regard des résultats obtenus par Sabatier et collègues (2021) sur des sédiments marins antillais. Les analyses avaient en effet montré des teneurs en CLDOH systématiquement égales ou supérieures à celles en CLD. Les auteurs n'ont cependant pas mis en avant ce résultat dans leur étude centrée sur l'effet de l'érosion dans la remobilisation de la CLD des sols. Aucune hypothèse n'a ainsi été avancée pour expliquer cette observation assez inattendue.

5. Développement du protocole d'extraction QuEChERS

5.1 Liste des molécules retenues pour le développement analytique

Nous avons décidé d'optimiser les paramètres du protocole QuEChERS avec la CLD et les PTs les plus représentatifs de l'ensemble des molécules ciblées (A1, B1, CLDOH, F1) et le mirex. Le pentachlorobenzène (PCB), précédemment retenu comme standard interne pour la famille des polychloroindènes (Chapitre 2) a également été intégré à cette étude méthodologique. Les caractéristiques de ces composés sont présentées dans le Tableau S4.3.

5.2 Choix du solvant d'extraction

Deux solvants d'extraction ont été testés : l'ACN qui est le plus utilisé pour les protocoles QuEChERS et le mélange hexane/acétone (H/A ; 85:15, v/v) classiquement employé pour l'extraction liquide-liquide de la CLD (Devault et al., 2018; Fariss et al., 1982; Lomheim et al., 2020). Récemment, des protocoles d'extraction de la CLD et du CLDOH dans les urines et les fèces ont été appliqués avec succès (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018). Pour ces développements, l'ACN a été utilisé comme solvant d'extraction QuEChERS. Le mélange H/A s'est révélé le plus efficace pour l'extraction QuEChERS de la CLD et ses PTs dans des digestats de méthanisation (Chapitre 2). Pour étudier ce paramètre, nous avons supplémenté notre matrice de travail (2 g de sédiments) avec CLD, A1, B1, CLDOH, F1, mirex et PCB. Après une heure d'agitation à température ambiante pour mimer l'adsorption des composés étudiés sur les sédiments, la matrice a été réhydratée avec 8 ml d'eau MilliQ. Le mélange a ensuite été extrait avec 10 ml d'ACN et 10 ml du mélange H/A. Les résultats sont présentés à la Figure 4.3. La tendance générale montre que l'ACN permet d'obtenir de meilleurs rendements d'extraction que le mélange H/A pour tous les composés, à l'exception du PCB pour lequel aucune différence significative n'a été obtenue entre les deux solvants. Lors du développement du protocole d'extraction de la CLD et de ses PTs dans les digestats de méthanisation, l'ACN et le mélange H/A avaient également été comparés. Pour cette matrice liquide particulière, le mélange H/A s'était montré plus efficace. Ainsi, l'étude du solvant d'extraction pour chaque matrice est primordiale bien que les composés étudiés restent inchangés. Ici, les sédiments de la James River sont des matrices riches en argiles, en sables et/ou en boues avec des teneurs en argiles de près de 50 % pour des carottes ayant des coordonnées GPS proches des sédiments utilisés dans cette étude (Moncure & Nichols, 1968). Or, la CLD est connue pour être fortement retenue sur des sols riches en argiles (Woignier et al., 2012). Sabatier et collègues ont extrait la CLD et le CLDOH dans des sédiments marins à l'aide d'un mélange MeOH/DCM (50:50). Des rendements de 78 % et 71 % ont été obtenus pour la CLD et le CLDOH respectivement (Sabatier et al., 2021). Bien que cette extraction ait eu lieu dans une cellule ASE chauffée à 100 °C et sous pression de 100 bars, l'utilisation de ce mélange de solvants de polarité moyenne, sur du sédiment lyophilisé, donc très hydrophobe, a permis d'avoir une extraction satisfaisante. L'ACN est un solvant plus polaire, miscible à l'eau contrairement à l'hexane, apolaire et hydrophobe. Cela a pu permettre à l'ACN, mélangé aux molécules d'eau présentes dans la carotte n°6 non séchée, d'atteindre plus efficacement les sites interstitiels des sédiments et mieux extraire les composés. À ce stade, l'ACN a donc été retenu pour la suite des étapes du développement analytique.

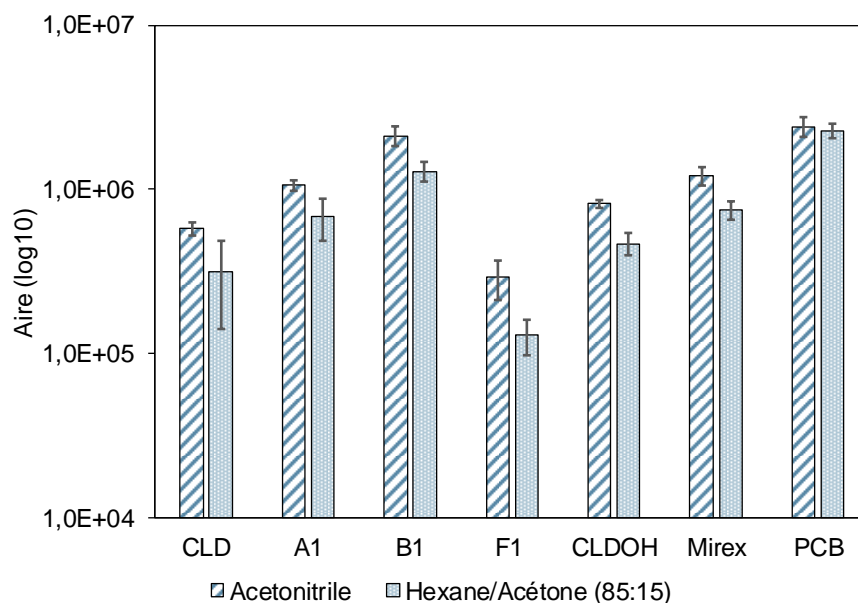


Figure 4.3. Réponse des composés (log10) supplémentés à 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (sauf F1 à 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) en fonction du solvant d'extraction utilisé, acétonitrile ou hexane/acétone (85:15) suivi d'une analyse en GC-SIM-MS (n = 3). Voir Tableau S4.5 pour les paramètres détaillés du protocole.

5.2.1 Choix des sels QuEChERS et du pH d'extraction

Dans un deuxième temps, le pH et la composition des sels QuEChERS ont été évalués. Dans la littérature, des protocoles QuEChERS avec et sans citrate sont décrits pour l'analyse de la CLD (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018; Saint-Hilaire, Inthavong, et al., 2018). Nous avons donc décidé de nous limiter à l'étude de ce facteur et n'avons pas modifié les concentrations en chlorure de sodium (NaCl) et en sulfate de magnésium (MgSO_4) par rapport au protocole développé dans le Chapitre 2. Au final, quatre combinaisons de paramètres ont été choisies : (i) avec ou sans acidification par HCl (6 M) et (ii) avec ou sans ajout de citrate de sodium dibasique (Na-citrate). Ainsi, nous avons obtenu pour les conditions [-HCl/+Na-citrate] et [-HCl/-Na-citrate] un pH de 6.5, tandis que l'ajout de HCl a permis d'obtenir un pH de 2 pour la condition [+HCl/-Na-citrate] et un pH de 3.5 pour la condition [+HCl/+Na-citrate]. Pour A1, CLD, CLDOH et mirex, aucune différence significative n'a été observée entre les quatre conditions (Figure 4.4). Pour F1, une valeur de pH acide augmente l'efficacité d'extraction de ce composé alors que l'ajout de Na-citrate semble être plus favorable pour extraire B1. Afin de maximiser l'extraction de chaque composé, une acidification combinée à l'addition de Na-citrate a donc été choisie pour la suite de l'étude.

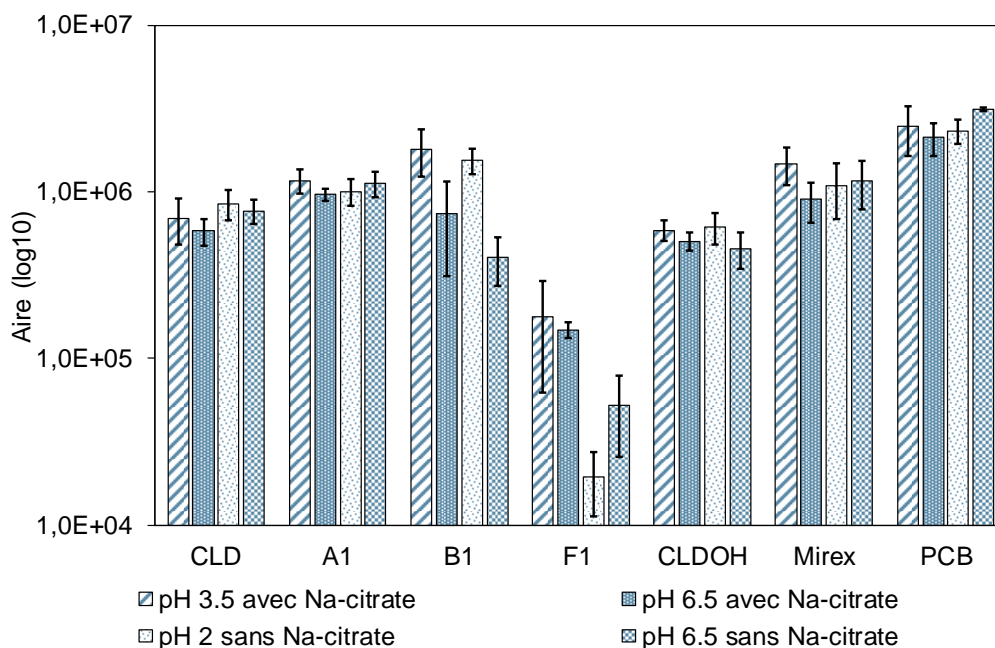


Figure 4.4. Réponse des composés (log10) supplémentés à 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (sauf F1 à 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) en GC-SIM-MS après extraction QuEChERS selon les quatre conditions testées (n=3). Voir Tableau S4.5 pour les paramètres détaillés du protocole.

5.3 Détermination de la quantité d'échantillon analysé

Le dernier paramètre que nous avons étudié était la masse de l'échantillon à analyser. Afin d'améliorer la sensibilité de la méthode, nous avons pensé à travailler avec une quantité d'échantillon plus élevée. Cependant, l'augmentation de la prise d'essai nous faisait courir le risque d'effets matriciels supplémentaires avec : (i) une suppression ou une augmentation de signal en spectrométrie de masse pour les composés d'intérêt ; (ii) un encrassement plus précoce de l'appareillage analytique. Il s'agissait donc là de trouver un compromis acceptable.

Pour cela, deux et six grammes de sédiments issus de la matrice de travail ont été extraits par 10 ml d'ACN avec une acidification jusqu'à pH 3.5 et ajout des sels QuEChERS (1.8 g Na-citrate, 1 g NaCl, 10 g MgSO_4) (Figure 4.5). Les proportions quantité d'échantillon vs quantités utilisées dans le protocole QuEChERS ont été maintenues. Le but était d'étudier le gain en sensibilité lors de l'étape de concentration finale.

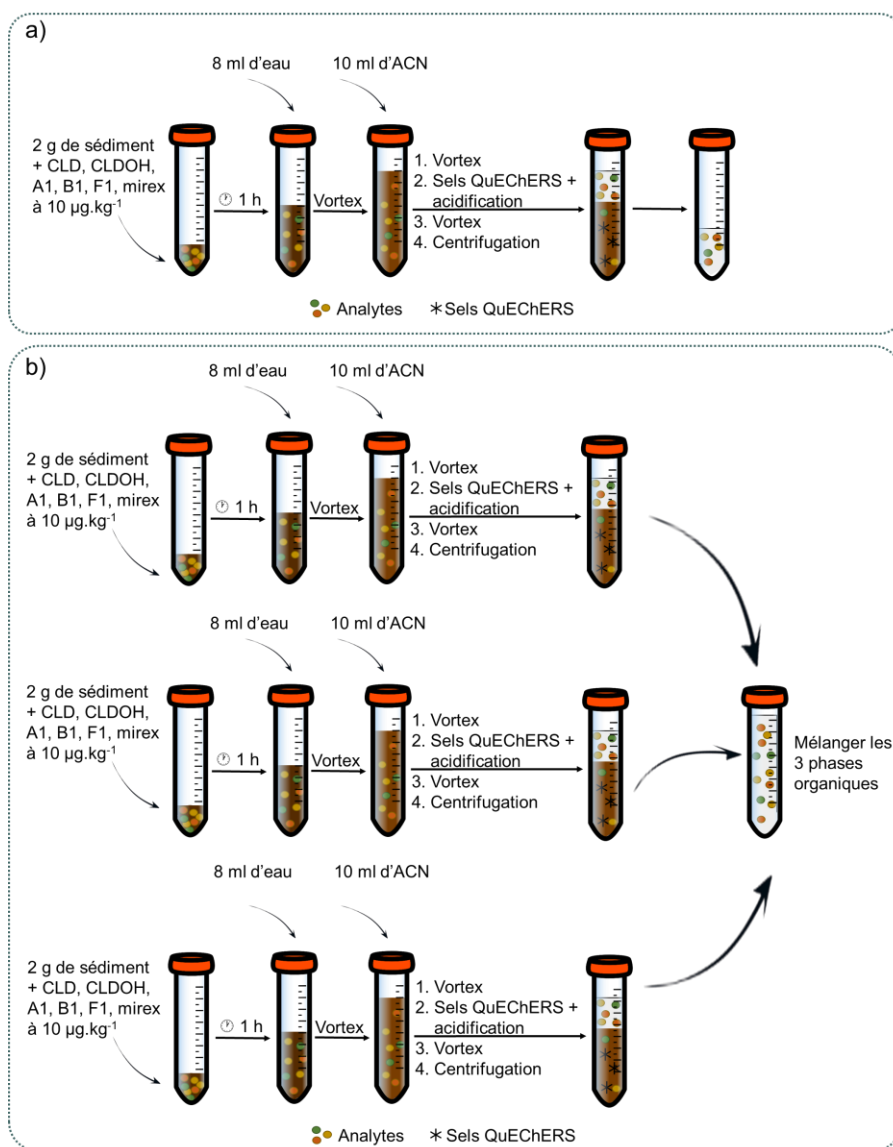


Figure 4.5. Schéma du protocole QuEChERS appliqué pour l'extraction de : a) 2 g et b) 6 g de sédiments

Les résultats sont présentés sur la Figure 4.6. Pour chaque composé, aucune différence significative n'a été observée entre deux et six grammes, à l'exception de A1, qui n'a été détecté que pour l'extraction de deux grammes et de F1 pour lequel une meilleure détection a été obtenue pour six grammes.

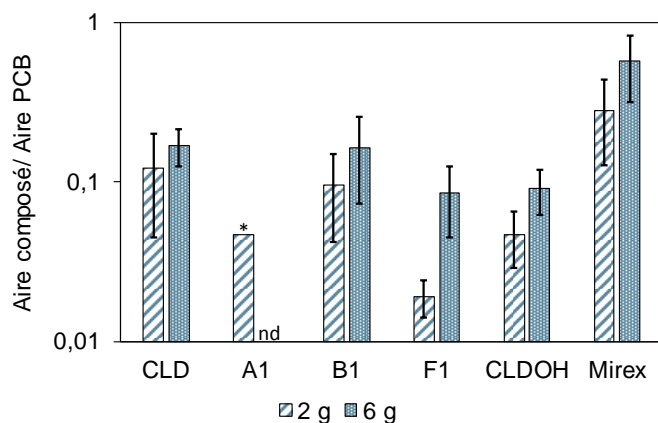


Figure 4.6. Réponse des composés supplémentés à $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ rapportée à la réponse du pentachlorobenzène (PCB, standard d'injection, $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ finale) en fonction de la quantité de sédiments extraite (2 g vs. 6 g) analysés en GC-SIM-MS ($n=3$). nd : non détecté, * : détecté dans un seul réplica. Voir Tableau S4.5 pour les paramètres détaillés du protocole.

Des effets matrice importants ont été observés pour A1 avec notamment un ion à m/z 238.1 (contre m/z 237.9 pour A1) qui co-élue avec A1. Le manque de résolution de l'appareil utilisé dans cette étude n'a pas permis de les séparer. Deux ions sont suivis parallèlement pour chaque composé, l'un pour quantifier le composé (ion de quantification), l'autre pour valider l'identité du composé (ion de qualification). L'ion à m/z 237.9 étant perturbé, nous avons donc regardé l'ion de qualification pour A1 (m/z 235.9), malheureusement nous avons également constaté des effets matrices importants. Contrairement à la CLD qui présente deux fragments principaux en impact électronique, $[\text{C}_5\text{Cl}_6]^{+\bullet}$ et $[\text{C}_5\text{Cl}_4\text{O}]^{+\bullet}$, A1 se fragmente en libérant un radical-cation largement majoritaire, $[\text{C}_5\text{Cl}_5\text{H}]^{+\bullet}$ (Chevallier et al., 2019). Nous n'avons donc pas pu choisir d'autres ions plus éloignés des interférents matriciels pour A1 sauf à perdre énormément en sensibilité. Nous avons ensuite évalué l'intérêt de modifier la méthode chromatographique pour séparer le pic de A1 et des interférents. Cependant, le pic matriciel étant très large, cette solution n'a pas été retenue. Afin de limiter l'encrassement du dispositif analytique et de préserver la détection de A1, deux grammes de sédiments ont été choisis à ce stade, même si cela diminue significativement les performances d'analyse de F1.

Le protocole QuEChERS final est schématisé sur la Figure 4.7. Cependant, on remarque pour le composé A1, que l'extraction QuEChERS seule ne permet pas de le détecter de manière fiable dans les trois réplicas (Figure 4.6). Réduire la quantité de sédiments pourrait peut-être permettre d'extraire moins d'interférents matriciels et donc de mieux détecter A1 mais peut également engendrer une augmentation des LODs pour les autres composés. L'objectif étant d'atteindre des LODs de l'ordre du $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ et si possible inférieur, comme dans l'étude de Sabatier et collègues (2021), nous avons décidé d'ajouter une étape de purification post-extraction.

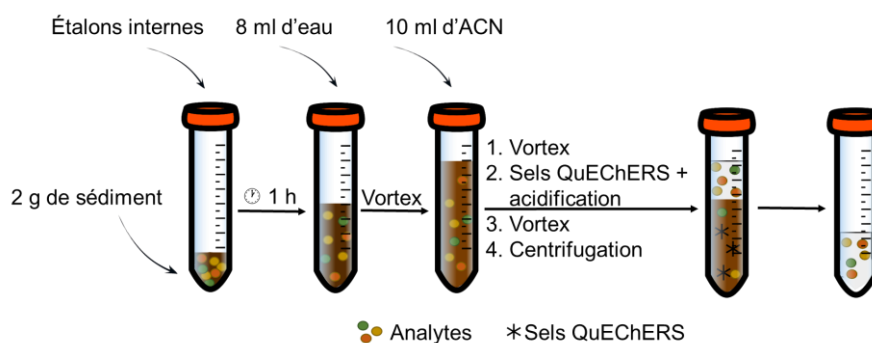


Figure 4.7. Schéma du protocole QuEChERS final retenu pour l'extraction de la CLD et ses PTs dans les sédiments de la James River

6. Développement du protocole de purification post-QuEChERS

Les analyses historiques des sédiments de la James River avaient permis de détecter la CLD à des concentrations comprises entre quelques dizaines et quelques milliers de $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Trotman & Nichols, 1978). Plus de 40 ans après la pollution, les processus de sédimentation et les courants ont pu conduire à une dilution spatiale ainsi qu'à une dégradation de la CLD. Les concentrations pour la CLD et ses éventuels PTs pourraient donc être bien plus basses de l'ordre de quelques $\mu\text{g.kg}^{-1}$, par exemple. Ces valeurs sont à rapprocher des concentrations comprises entre 0.1 et 2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ observées pour la CLD et le CLDOH dans les sédiments récupérés au large des côtes de la Martinique et de la Guadeloupe (Sabatier et al., 2021). Cette gamme de concentrations est en-dessous des LODs de notre dispositif GC-MS équipé d'un simple quadripôle (pour une solution de CLD en solvant, la $\text{LOD}_{\text{GC-SIM-MS}}$ étant estimée à environ 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$). Comme nous venons de le voir, le protocole QuEChERS-GC-SIM-MS, en concentrant l'échantillon, conduit à des effets matrice néfastes à la détection de A1. Plusieurs méthodes de purification existent, telles que l'extraction dispersive en phase solide (d-SPE), qui est la méthode la plus couramment utilisée après une extraction QuEChERS, la SPE avec un sorbant compacté dans une cartouche, ou la micro-extraction en phase solide (SPME) avec l'utilisation d'une fibre recouverte de polymère. Ces trois méthodes ont déjà été utilisées pour l'analyse de la CLD et/ou de ses PTs : dans des matrices d'origine animales pour la d-SPE (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018) et la SPE (Fourcot et al., 2021) et dans des matrices environnementales avec les eaux de rivière et souterraines pour la SPME (Chapitre 2).

6.1 Extraction sur phase solide dispersive (d-SPE)

Dix extractions QuEChERS ont été effectuées selon le protocole précédemment développé à partir de sédiments supplémentés avec les composés d'intérêt. Les dix extraits dans l'ACN ont ensuite été réunis puis utilisés pour réaliser les tests de comparaison des différents types de d-SPE à notre disposition (Figure 4.8).

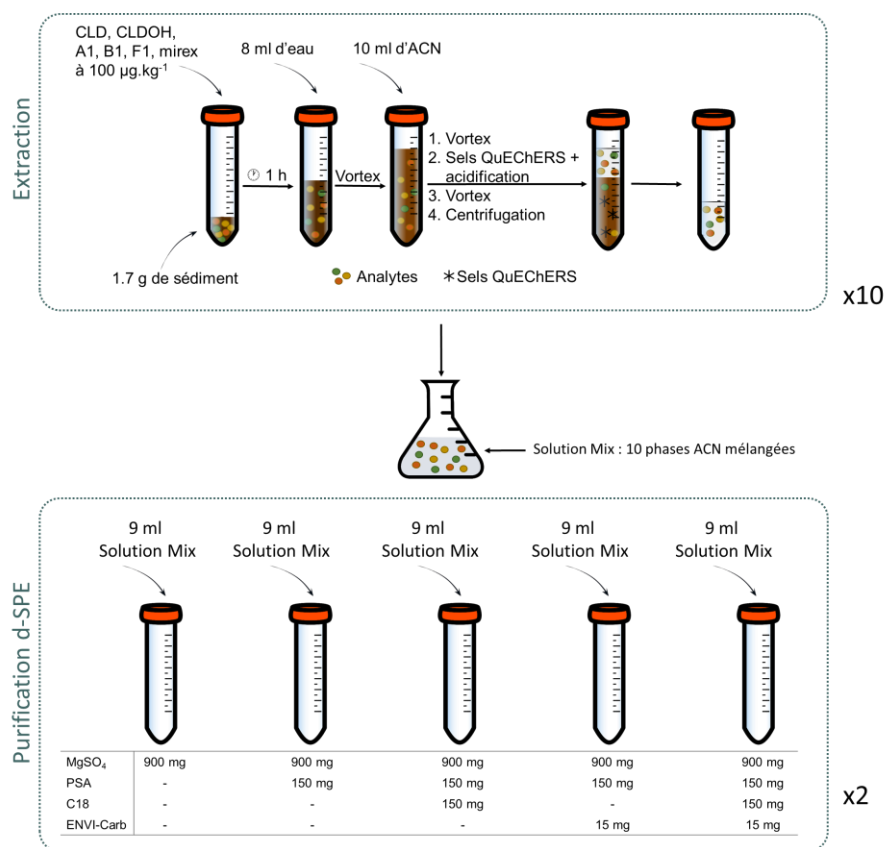


Figure 4.8. Schéma du protocole réalisé pour comparer les différents sorbants de d-SPE.

Plusieurs sorbants et mélanges de sorbants d-SPE existent pour purifier les extraits issus d'un protocole QuEChERS. Les plus couramment utilisés sont les amines primaires et secondaires (PSA), permettant de retirer les acides gras, les sucres et les lipides, le sorbant C18 (chaîne carbonée à 18 atomes de carbone), permettant de retirer les lipides et enfin le carbone graphite noir (GCB et ENVI-Carb, une version améliorée de GCB) pour extraire les pigments (Perestrelo et al., 2019). Pour la purification de l'extrait de sédiments, quatre combinaisons de d-SPE ont été testées : PSA, PSA/C18 1:1, PSA/ENVI-Carb 1:0.1 et PSA/C18/ENVI-Carb 1:1:0.1. À chaque fois, du sulfate de magnésium est ajouté afin d'ôter les traces d'eau résiduelles (Musarurwa et al., 2019). Un contrôle sans sorbant actif de d-SPE, c'est-à-dire avec du sulfate de magnésium seul, a également été testé. Visuellement, nous avons pu observer que l'extrait de sédiments possédait une couleur verte (contrôle sans sorbant actif de d-SPE, avec MgSO₄ seul) et que l'ajout d'un ou plusieurs sorbants permettait de retirer des pigments de la solution (Figure 4.9). L'ajout de ENVI-Carb a montré la meilleure rétention des pigments.

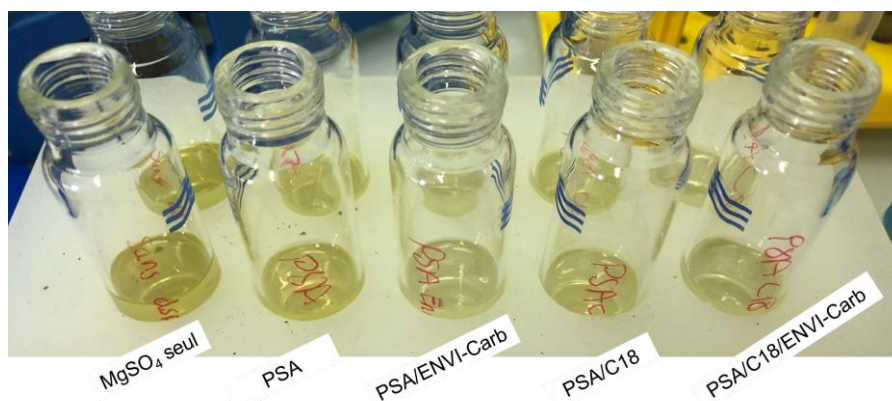


Figure 4.9. Extraits purifiés par différents sorbants actifs d-SPE et un contrôle sans ajout de sorbant actif ($MgSO_4$ seul) à la suite d'une extraction QuEChERS de la matrice de travail constituée de la carotte n°6. Les proportions de d-SPE sont disponible à la Figure 4.8.

Les réponses en GC-SIM-MS sont présentées dans la Figure 4.10. Pour A1, B1 mirex et CLD, l'ajout d'une étape de purification par d-SPE n'a pas eu d'effet bénéfique sur le rapport signal sur bruit (S/N). Pour CLDOH et F1, le contrôle sans sorbant actif d-SPE a conduit à des résultats similaires aux meilleures conditions de d-SPE. En conséquence, la méthode de purification par d-SPE n'a pas été retenue pour le protocole d'analyse des sédiments. Saint-Hilaire, Inthavong et collègues (2018) ont testé trois d-SPE (C18, PSA/C18 et PSA/C18/ENVI-Carb) pour purifier un extrait de foie contenant de la CLD et du CLDOH. Si pour la CLD, les différentes d-SPE ne montraient pas de différences avec le contrôle sans d-SPE, pour le CLDOH, des meilleurs S/N ont été obtenus pour la d-SPE PSA/C18/ENVI-Carb. Nous n'avons pas observé une telle tendance dans notre cas, les interférents étant variables selon les matrices étudiées. Il est à noter que la réponse de B1 a particulièrement diminué lors de l'ajout de d-SPE contenant de l'ENVI-Carb. En effet, le GCB est connu pour retenir les composés hydrophobes planaires (Pereirelo et al., 2019).

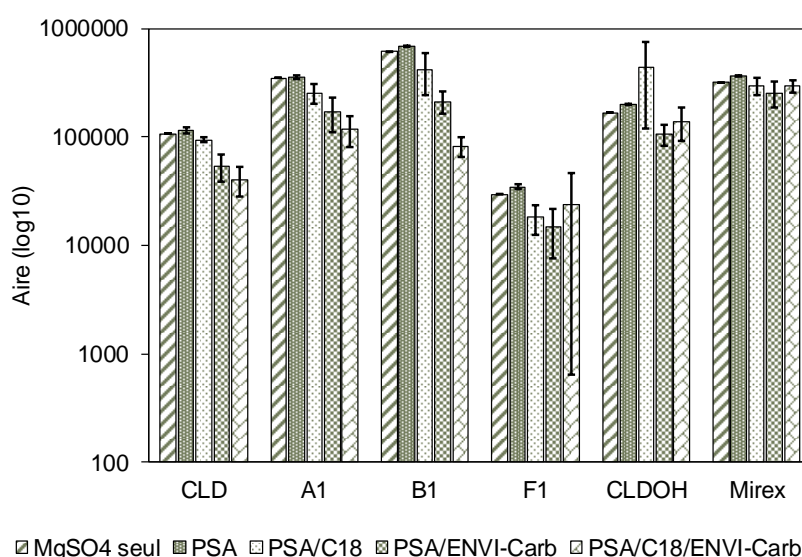


Figure 4.10. Réponse des composés (\log_{10}) supplémentés à $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ en GC-SIM-MS en fonction de la d-SPE utilisée ($n=2$). Protocole détaillé à la Figure 4.7.

6.2 Extraction sur phase solide (SPE)

La deuxième méthode de purification testée a été l'extraction sur phase solide (SPE). Son optimisation se déroule généralement en plusieurs étapes (Figure 4.11). La première étape consiste au choix du sorbant qui devra être adapté à la nature des composés ciblés. Dans notre cas, plusieurs phases stationnaires peuvent être choisies dans la mesure où la CLD et ses PTs sont globalement peu polaires. Ainsi, une phase normale polaire, telle que la silice ou la florasil, peut être utilisée pour retenir préférentiellement les interférents matriciels polaires et laisser passer au travers de la cartouche les composés d'intérêt. D'un autre côté, une phase inverse, avec la C18, est une phase apolaire qui va retenir préférentiellement les composés peu polaires et laisser passer les interférents matriciels plus polaires. Après des essais préliminaires sur ces deux types de phase, nous avons décidé d'utiliser comme phase stationnaire une phase inverse possédant un greffage de type C18. Notre choix a été conforté par l'utilisation de cette phase pour extraire la CLD du sérum (Fourcot et al., 2020; Multigner et al., 2010; Saint-Hilaire et al., 2021).

Dans le but de limiter l'utilisation de certains PTs, disponibles en faible quantité au laboratoire, et de ne pas consommer la matrice de sédiments composite, les mises au point ont été réalisées sur trois composés présentant la plus grande variété de polarité (le PCB représentatif de la famille des polychloroindènes, le F1 et la CLD) directement mis en solution dans l'ACN afin de simuler l'échantillon issu de l'extraction QuEChERS.

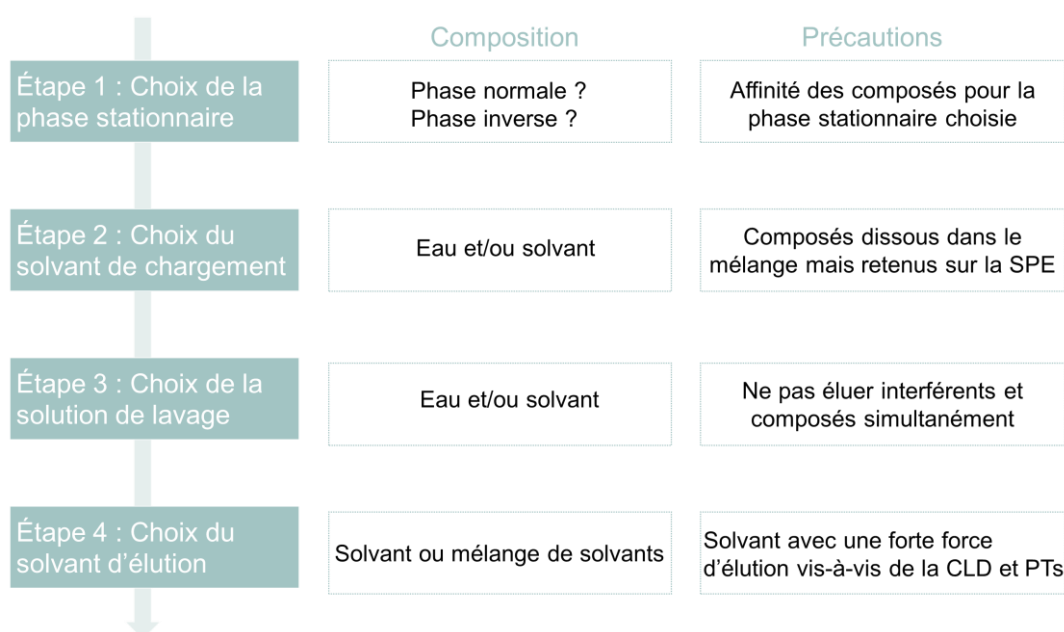


Figure 4.11. Liste des principales étapes du développement d'un protocole SPE

Nous avons dû d'abord choisir le solvant de chargement. Lorsque cela est possible, l'eau, seule, est utilisée afin de favoriser les interactions hydrophobes entre les composés d'intérêt et la phase stationnaire C18. Ici, l'hydrophobicité de la CLD et de certains PTs a requis la présence d'un solvant pour avoir la garantie d'une dissolution complète de tous les composés. Dans notre étude, après l'extraction QuEChERS, l'extrait de sédiments se trouve dans 10 ml d'ACN pur. L'ACN présente un point d'ébullition relativement haut (82 °C), son évaporation par flux de diazote est donc une étape assez chronophage, qui peut en outre conduire à la perte partielle de certains composés volatils. Nous avons donc testé en priorité plusieurs mélanges ACN/eau avec des ratios de 75:25, 50:50 et 25:75 avec un volume de chargement de 1 ml sur une cartouche remplie avec 2 g de C18. Cette étape de chargement a ensuite été suivie de deux lavages avec 5 ml d'eau puis 5 ml d'ACN/eau (50:50). Les échantillons collectés après élution contenaient de l'eau, nous avons donc privilégié l'usage de la LC-HRMS pour suivre la CLD par praticité et aussi pour gagner en sensibilité par rapport à l'analyse GC-MS. En complément, nous avons aussi effectué des extractions à l'aide d'acétate d'éthyle (500 µL) afin de rechercher dans les différentes fractions le PCB et le F1, uniquement détectables en GC-MS. Pour les solvants de chargement ACN/eau 50:50 et 25:75, les trois composés ont bien été retenus sur la cartouche C18 contrairement au mélange ACN/eau 75:25 qui n'a pas permis la fixation efficace des composés sur la phase C18. Afin de favoriser la solubilisation des composés, en particulier aux très faiblement polaires, nous avons décidé d'utiliser le mélange ACN/eau (50:50).

Le volume du solvant de chargement avec le ratio ACN/eau 50:50 initialement retenu (1 ml) nécessitait forcément la concentration de l'extrait de 10 ml d'ACN issu du protocole QuEChERS. Nous avons donc voulu augmenter le volume de chargement à 20 ml en simulant l'ajout de 10 ml d'eau à l'extrait QuEChERS. Afin de se donner plus de chance, nous avons testé deux quantités de sorbant C18, 1 g et 4 g. Trois fractions ont été collectées en sortie de cartouche puis analysées : le solvant de chargement élué, le lavage 1 avec 5 ml d'eau et le lavage 2 avec 5 ml d'eau/ACN (50:50). Ainsi, pour 1 g de C18, CLD et F1 ont été détectés dans la fraction contenant le solvant de chargement et ainsi que dans la fraction de lavage 2 (Tableau 4.2-a). Par contre, avec 4 g de sorbant C18, aucun composé n'a été détecté dans trois fractions indiquant une adsorption quantitative sur la cartouche SPE (Tableau 4.2-b).

À ce stade, nous avons donc validé la nature et le volume du solvant de chargement (20 ml du mélange ACN/eau 50:50), du solvant de lavage (5 ml d'eau puis 5 ml du mélange ACN/eau 50 :50) et la quantité de sorbant C18 (4 g) à utiliser.

a)

Étapes	Solvant	CLD	F1	PCB
Chargement	ACN/eau (50:50)	7.8E4	3.3E4	nd
Lavage n°1	Eau	nd	nd	nd
Lavage n°2	ACN/eau (50:50)	3.5E5	3.9E4	nd

b)

Étapes	Solvant	CLD	F1	PCB
Chargement	ACN/eau (50:50)	nd	nd	nd
Lavage n°1	Eau	nd	nd	nd
Lavage n°2	ACN/eau (50:50)	nd	nd	nd

Tableau 4.2 Analyse des différentes fractions d'élution en sortie de cartouche SPE après le chargement de 20 ml d'ACN/eau (50:50) supplémenté à 0.2 mg.L⁻¹ de PCB, 0.4 mg.L⁻¹ de CLD et 1.2 mg.L⁻¹ de F1 avec a) 1 g de C18 et b) 4 g de C18. Les analyses ont été réalisées en GC-SIM-MS après une extraction avec 500 µL d'acétate d'éthyle des phases aqueuses. nd : non détecté.

La nature du solvant d'élution a ensuite été étudiée. Pour cela, sept solvants/mélanges de solvants ont été testés : ACN, ACN/ Tétrahydrofurane (ACN/THF (50:50)), ACN/acétone (50:50 et 75:15) ou éther diéthylique/hexane (Et₂O/H ; 50:50 et 85:15). Ces solvants ont été choisis en fonction de leur force d'élution (Badawy et al., 2022). Dans chaque cas, l'élution a été faite en cinq ajouts successifs de 5 ml qui ont donc conduit à cinq fractions. Les mélanges Et₂O/H (85:15 et 50:50) ont montré une meilleure efficacité avec une élution quasi-complète des trois composés au bout de seulement trois volumes de 5 ml (Figure 4.12). Pour l'ACN pur et les mélanges ACN/THF et ACN/acétone, la somme des intensités des trois premières fractions d'élution est inférieure à celles des mélanges Et₂O/H (85:15 et 50:50). En effet, l'ACN, l'acétone et le THF sont des solvant plus polaires que Et₂O et l'hexane. Ils ne pourront donc pas entrer facilement en compétition avec la phase C18 pour faire éluer les trois composés globalement très peu polaires. Même si pour les deux mélanges Et₂O/H, trois volumes d'élutions sont nécessaires pour atteindre des taux de récupérations proches de 100 %, nous avons fait le choix du mélange Et₂O/H (85:15) qui correspondait au mélange de solvants utilisé par Multigner et collègues (2010) pour l'analyse de la CLD. Ce mélange permet à la fois l'élution de composés apolaires (F1 et PCB) et faiblement polaire (CLD), on peut imaginer qu'il limite l'élution d'interférents matriciels très apolaires qui auraient pu éluer avec le mélange Et₂O/H (50:50).

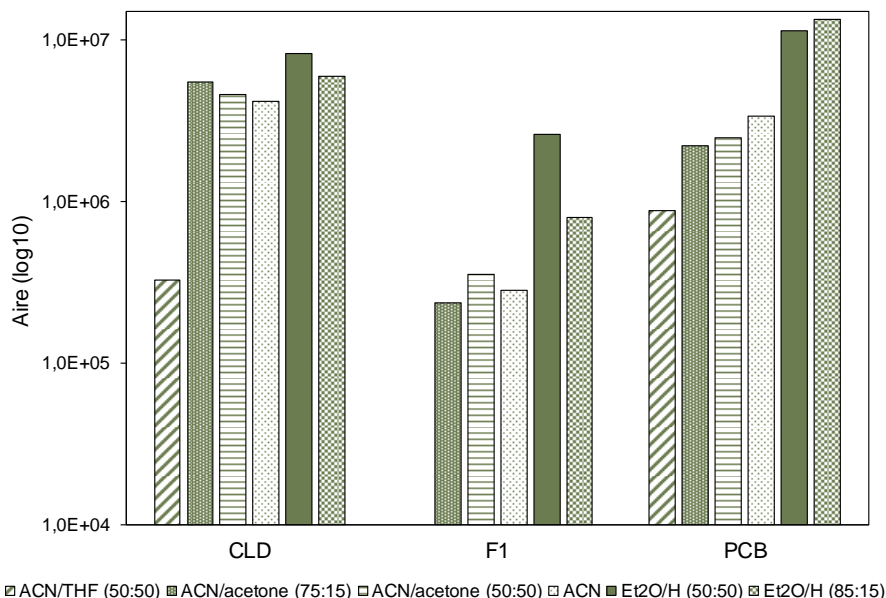


Figure 4.12. Somme des aires des composés des trois premières éluions successives de 5 ml en fonction du solvant obtenues en LC-HRMS pour la CLD et en GC-MS pour F1 et PCB (n=1).

Le schéma récapitulant les différentes étapes de la mise au point du protocole SPE est présenté à la Figure 4.13. Cette étape de purification a ensuite été testée sur des sédiments. L'analyse en GC-SIM-MS a permis de détecter tous les composés, validant qualitativement les étapes de fixation/élution sur SPE C18. Cependant, des effets matrice importants sont encore apparus pour A1. Plutôt que de se lancer dans une nouvelle ré-optimisation du protocole SPE, nous avons préféré ajouter une deuxième étape de purification avec la technique SPME.

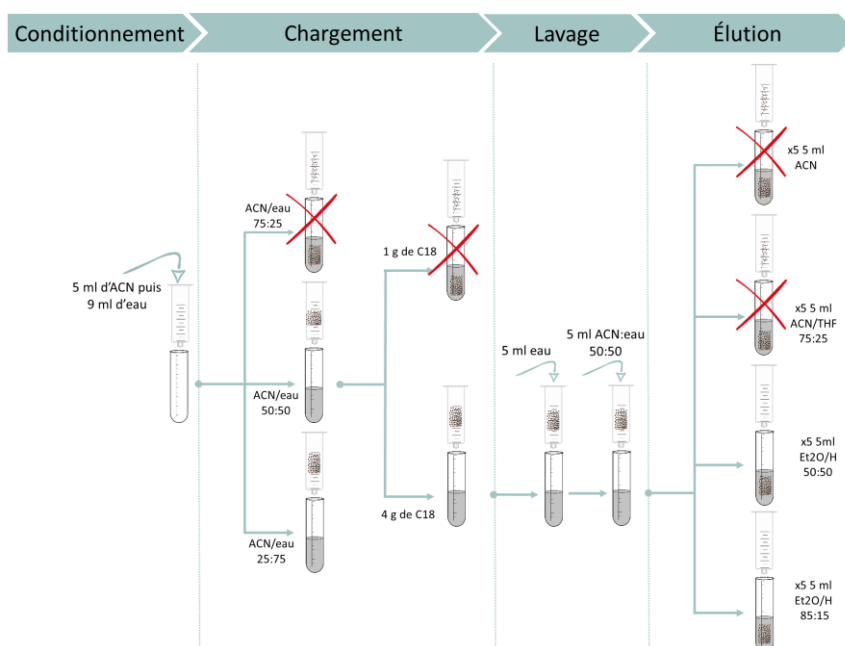


Figure 4.13. Schéma des différentes étapes du développement de la méthode de purification SPE avec les différentes conditions testées.

6.3 Micro-extraction sur phase solide

La SPME a récemment été utilisée pour l'analyse de la CLD et de ses PTs ainsi que d'autres organochlorés dans les eaux de surface et souterraines des Antilles françaises (Chapitre 3). Pour rappel, cette technique utilise une fibre recouverte d'un polymère permettant d'adsorber préférentiellement les analytes cibles d'une solution aqueuse. La fibre est ensuite désorbée thermiquement dans l'injecteur GC-MS afin de procéder à l'analyse. L'avantage de cette technique est de limiter l'extraction parallèle des interférents matriciels et de concentrer l'échantillon. Il est ainsi possible d'obtenir de meilleures limites de détection. Soler et ses collègues ont ainsi atteint $50 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour la CLD dans le sol avec un instrument GC-MS équipé d'un simple quadripôle (Soler et al., 2014). Dans l'eau, nous avons obtenu des limites de détection comprises entre 3 ng.L^{-1} et 5 ng.L^{-1} pour la CLD et ses PTs (Chapitre 3).

La SPME est utilisée ici pour purifier l'échantillon issu de l'extraction QuEChERS et déjà purifié par SPE. Nous avons utilisé directement les conditions SPME mises au point pour les analyses d'eaux environnementales (Chapitre 3) en partant d'un extrait de sédiments supplémenté à $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ avec CLD, CLDOH, A1, B1, mirex et F1 supplémenté à $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$. À l'issue de la purification par SPE, l'échantillon contenu dans 15 ml du mélange $\text{Et}_2\text{O}/\text{H}$ (85:15) a été séché directement sous flux de diazote dans un flacon SPME auquel on a rajouté 20 ml d'eau par la suite. Une expérience similaire a été effectuée sans l'étape de purification par SPE afin de voir si un protocole QuEChERS-SPME-GC-SIM-MS pouvait être suffisant. Pour B1, mirex et F1, les pics chromatographiques obtenus présentaient des S/N supérieurs dans le cas du protocole QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS (Figure 4.14). Même, si on n'observe pas de différence manifeste pour CLD et CLDOH entre les deux conditions, A1 n'est détecté qu'avec l'utilisation de la SPE. Ces résultats confirment donc l'intérêt d'introduire l'étape de SPE dans le protocole.

La fibre SPME permet d'adsorber préférentiellement les composés d'intérêt. Cependant, des composés matriciels, comme des particules en suspension, peuvent également s'adsorber sur la fibre et bloquer des sites actifs. Ainsi, les performances de la fibre sont diminuées au fil des analyses. On peut évaluer le « vieillissement » de la fibre en analysant tout au long de sa durée de vie des solutions de référence pour plusieurs composés d'intérêt. Le rapport des intensités des signaux peut alors être vu comme un « facteur de vieillissement » des performances de la fibre. Nous avons évalué ce facteur en réalisant une analyse SPME-GC-SIM-MS d'un échantillon aqueux de CLD, A1 et CLDOH avant et après l'analyse de sédiments par un protocole QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS. Afin de voir l'éventuel effet de l'étape de purification par SPE, nous avons réalisé la même chose avec l'analyse de sédiments par QuEChERS-SPME-GC-SIM-MS. Le facteur de vieillissement obtenu après une extraction QuEChERS-SPE-SPME est nettement plus faible pour A1 et CLD comparé à celui obtenu après une extraction QuEChERS-SPME simple (Tableau S4.6). Nous en avons donc déduit que l'étape de purification par SPE ralentissait

le vieillissement de la fibre dû à ce type de matrice ce qui nous a conforté dans la stratégie d'un enchaînement d'étapes SPE-SPME.

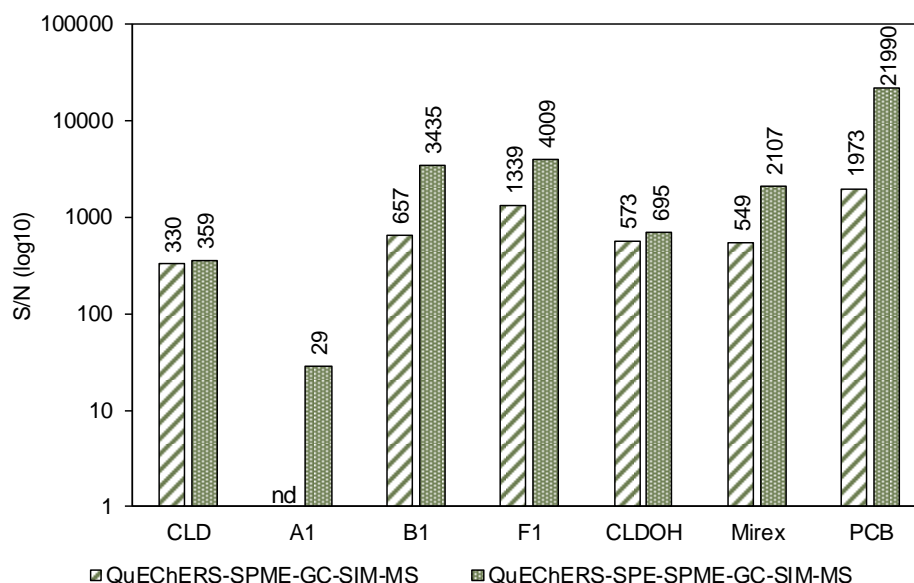


Figure 4.14. Rapport S/N des composés supplémentés à $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour CLD, A1, B1, CLDOH, mirex et PCB et $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$ pour F1 à la suite des protocoles QuEChERS-SPE-GC-SIM-MS et QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS ($n=1$). Les S/N correspondants sont indiqués au-dessus de chaque histogramme.

Finalement, l'introduction de la SPME permet d'augmenter la sensibilité de la méthode. Au vu des rapports S/N obtenus, on peut estimer que les limites de détection de la plupart des composés atteignent l'objectif fixé, c'est-à-dire le seuil de $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Figure 4.14). Lorsque nous avons voulu finaliser l'évaluation des performances de la méthode développée, nous avons observé une baisse de l'intensité des signaux MS pour la majorité des composés. Notre première hypothèse a été d'incriminer la fibre SPME. En effet, les fibres SPME ne sont pas parfaitement identiques entre-elles et il peut arriver qu'un lot de fibres soit moins efficace et moins durable qu'un autre. Ainsi, nous avons testé plusieurs fibres de deux lots différents et avons obtenu les mêmes résultats. Supposant qu'il s'agissait d'un encrassement brutal de la fibre SPME par adsorption irréversible d'interférents matriciels, nous avons injecté de nombreux blancs MeOH/eau (50:50), comme nous avons procédé pour éliminer le carryover de la CLD au chapitre 3, mais en vain. L'analyse d'autres échantillons sans interférents matriciels a montré un comportement similaire avec une forte diminution des performances de la détection en spectrométrie de masse et la nécessité de nettoyer très régulièrement la source d'ionisation pour maintenir un niveau de performance suffisant. Nous avons finalement diagnostiqué une usure très avancée du multiplicateur du spectromètre de masse qui explique ce phénomène d'effondrement de la sensibilité. Le changement de cette pièce a été planifié, malheureusement, les contraintes de temps de la thèse ne m'ont pas permis de tester à nouveau le protocole QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS afin de le valider définitivement avec d'évaluer de ses performances.

7. Conclusions et perspectives

Les sédiments de rivière sont des matrices complexes riches en matières organiques (MO), en minéraux et en eau. Les composés peuvent ainsi s'adsorber, plus ou moins fortement, sur la MO et/ou les argiles présentes. Le processus d'extraction des composés de la matrice comporte deux étapes : une désorption des composés de la matrice et une dissolution de ces derniers dans le solvant d'extraction (Souza-Silva et al., 2015). Le protocole QuEChERS récemment développé pour le digestat a été adapté avec succès aux sédiments. Plusieurs paramètres ont été étudiés afin d'obtenir un protocole d'extraction final pour CLD, A1, A2, B1, Mirex et F1 avec 2 g de sédiments. La complexité de cette matrice sédiments et les limites de détection requises pour le projet nous ont conduits à réaliser un travail supplémentaire de purification de l'extrait QuEChERS pour : i) concentrer les composés afin d'améliorer les limites de détection et ii) limiter les effets matrices dus à la concentration de l'échantillon au cours du protocole. Pour cela, nous avons utilisé une combinaison d'extractions sur phase solide SPE puis SPME. Nous avons pu préliminairement estimer des LODs égales ou inférieures à $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ démontrant la pertinence de la méthode QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS développée.

Une dernière difficulté subsiste encore : une baisse importante du signal en GC-MS a été observée à la suite de plusieurs injections d'extraits de sédiments issus de la séquence extraction/purification/injection QuEChERS-SPE-SPME. Après des tests techniques poussés, un changement de pièce sur le spectromètre de masse s'est révélé nécessaire. La validation définitive de la méthode ainsi que l'évaluation de ses performances sont donc encore à réaliser. La détermination des LODs/LOQs, des rendements d'extraction ainsi que des incertitudes de la méthode seront extrêmement importants pour interpréter les futurs résultats d'analyse des carottes de la James River. Nous tirerons également bénéfice des travaux effectués aux chapitres 2 et 3 pour le choix des standards internes à utiliser : la $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD pour quantifier la CLD, A1, A2 et le mirex. Le -1Cl-CLDOH-Me et le PCB seront quant à eux utilisés pour quantifier le CLDOH et la famille B respectivement. Si d'aventure des résultats intéressants étaient obtenus, des échantillons de chaque section de carotte ont été conservés en vue de faire une analyse génomique des populations de micro-organismes présents. La comparaison avec ceux déjà identifiés sera très intéressante (Chaussonnerie et al., 2016; Chevallier et al., 2019; Della-Negra et al., 2020; Hellal et al., 2021; Lomheim et al., 2020).

Aujourd'hui, l'utilisation de la SPME comme étape de purification implique une analyse en GC-MS au Genoscope. Ainsi, les composés de la famille C, seulement détectables en chromatographie en phase liquide sont de fait exclus de cette recherche. Si nous voulions les rechercher dans les sédiments en utilisant le même protocole, plusieurs possibilités s'offriraient à nous. Afin de garder la sensibilité de la méthode SPME, les composés de la famille C pourraient être dérivatisés pour permettre leur détection

en GC-MS. La dérivation pourrait intervenir soit au tout début du protocole, soit à la toute fin, selon les performances d'extraction/purification du protocole QuEChERS-SPE. La deuxième option serait de réaliser deux analyses en parallèle, une en SPME-GC-MS et la seconde en LC-HRMS ou en LC-MS/MS après la séquence QuEChERS-SPE dans le même esprit que la double analyse effectuée pour les digestats de méthanisation (Martin et al., 2023). Dans cette étude, nous avons déterminé des rendements d'extraction et LODs pour la famille C après extraction QuEChERS seule. Des rendements entre 49 et 69 % avaient été obtenus pour C1-C2 et C3-C4 ainsi que des LODs d'une trentaine de $\mu\text{g.L}^{-1}$. La méthode QuEChERS-SPE développée ici ne présente pas un facteur de concentration beaucoup plus important permettant d'abaisser ces LODs d'un facteur 30 mais à l'époque nous n'avions pas utilisé de méthode SIM ou MRM (*multiple reaction monitoring*) en LC-HRMS. Cela permettrait tout de même un gain de sensibilité.

- Chapitre 5 - Conclusion générale et perspectives

Les objectifs de ma thèse étaient de développer des protocoles d'analyse pour détecter la CLD et ses produits de transformation dans des matrices environnementales et dans des expériences de bio-remédiation de la CLD. Mettre ensuite à disposition ces nouveaux outils analytiques sera capital afin d'améliorer la compréhension des capacités du vivant à dégrader la CLD, que ce soit dans des compartiments environnementaux particuliers ou bien dans le cadre de procédés de bio-remédiation. Dans notre cas, nous nous sommes focalisés sur trois matrices que l'on peut regrouper en deux catégories : les matrices liquides simples correspondant aux eaux environnementales (eaux de rivière, eaux souterraines, et eaux de source) et les matrices complexes riches en matières organiques ou minérales avec les digestats de méthanisation et les sédiments de fleuve. À chaque fois, les protocoles d'extraction/purification ont été adaptés à la matrice cible et aux questions scientifiques posées. Comme nous l'avons vu au Chapitre 1, chaque méthode utilisée pour analyser des composés organochlorés présente des avantages mais également des inconvénients. Dans le contexte du présent travail de thèse, les choix faits et les solutions trouvées en sont des illustrations. Nous nous proposons ici de revenir sur ces aspects afin de formuler ensuite des perspectives de travail.

1. Protocoles d'extraction pour les matrices complexes

1.1 Résumé

L'analyse des matrices environnementales riches en matière organique est souvent complexe. Le cas de la CLD connue pour se lier fortement à la matière organique et pour générer une diversité structurale de produits de transformation renforce ici le défi à relever. À travers deux projets collaboratifs, sur les digestats de méthanisation (ENSAIA/Université de Lorraine), l'autre sur les sédiments de la James River (VIMS), j'ai réussi à mettre au point des protocoles QuEChERS capables d'extraire efficacement la CLD ainsi que ses principaux PTs. L'étude du devenir de la CLD en conditions méthanogènes a été facilitée par le choix de la concentration de travail élevée en CLD (20 mg.L^{-1}). Une optimisation des conditions QuEChERS, avec le choix du solvant d'extraction, H/A (85:15), le pH d'extraction (pH 2) et les sels QuEChERS utilisés (NaCl, Na-citrate et MgSO_4) a permis d'obtenir des LODs suffisamment basses pour quantifier les PTs associés à des taux de conversion de moins de 1 % par rapport à la CLD de départ. Pour les sédiments de la James River, des étapes de concentration et de purification de type SPE et SPME ont dû être ajoutées à la suite de l'extraction QuEChERS initiale afin d'atteindre des concentrations environnementales mille fois plus basses (inférieures ou égales à $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$). Des analyses en GC-SIM-MS et, dans le cas des digestats, en LC-HRMS également, ont ensuite été réalisées. L'évaluation des performances analytiques de la méthode mise au point pour les sédiments de la James River n'a pas pu être effectuée dans le temps de la thèse suite à des problèmes techniques rencontrés. Dans ces deux projets,

le protocole QuEChERS s'est montré capable de remplacer efficacement l'extraction ASE très souvent utilisée pour les matrices complexes.

1.2 Les avantages de la méthode d'extraction QuEChERS

Le protocole QuEChERS est réputé pour être une méthode d'extraction universelle, avantage qui a été confirmé dans ces deux projets. Dans le cas des digestats où des analyses GC-MS et LC-HRMS ont ensuite été effectuées, ce protocole a ainsi permis d'extraire six familles de produits de transformation, allant de molécules très apolaires comme les polychloroindènes, jusqu'aux acides polychloroindènegarboxyliques, relativement hydrophiles. La méthode d'extraction QuEChERS a déjà été décrites pour l'analyse de nombreux autres composés (Perestrelo et al., 2019; Santana-Mayor et al., 2019). Il est donc tout à fait envisageable de l'étendre à d'autres polluants organiques pertinents dans le cadre d'une méthode analytique multi-résidus adaptée au contexte particulier des Antilles françaises.

Contrairement à d'autres stratégies, ce protocole est peu onéreux et est rapide à mettre en œuvre. Aucun appareil n'est requis à l'exception d'une centrifugeuse, appareil classique d'un laboratoire d'analyse. Cette méthode utilise également très peu de solvants d'extraction (dans notre cas, 10 ml par échantillon), limitant ainsi l'exposition des manipulateurs et le coût de la méthode. La simplicité du protocole QuEChERS permet également de réaliser des extractions en parallèle, ce qui augmente nettement le débit des analyses, notamment par rapport à l'extraction liquide-liquide (LLE). Pour donner un exemple concret, il a été possible d'effectuer 16 extractions QuEChERS contre 4 extractions LLE en une demi-journée pour l'analyse des digestats de méthanisation. Enfin, cela contribue à réduire la pénibilité qui peut apparaître dans le cadre de grandes campagnes d'analyses d'échantillons.

1.3 Les inconvénients de la méthode d'extraction QuEChERS rencontrés

La méthode QuEChERS présente cependant plusieurs inconvénients. Pour les sédiments de la James River, nous avons été confrontés au problème des interférents matriciels. En effet, cette méthode, présentée comme universelle, permet, certes, d'extraire une multitude de composés, mais également toutes sortes de composés issus des matrices ciblées qui nuisent aux analyses, comme cela a été observé pour le PT A1 dans les sédiments. Des étapes de purification supplémentaires doivent donc être introduites. La méthode initialement simple et rapide peut donc devenir, par voie de conséquence, fastidieuse et sujette à d'éventuelles erreurs de manipulation, compte-tenu de l'augmentation du nombre d'étapes.

En outre, contrairement aux méthodes LLE, ASE et Soxhlet qui favorisent l'épuisement de la matrice par extractions multiples ou en continu, l'extraction QuEChERS comporte traditionnellement une seule étape d'extraction. Le solvant d'extraction choisi devra donc être parfaitement adéquat pour les

analytes ciblés. Il faut donc admettre que dans le cas d'une méthode multi-résidus, il sera difficile d'atteindre des rendements d'extraction proches de 100 % pour chaque composé. Cela renforce l'importance du choix des étalons internes et l'éventuelle nécessité de réaliser des courbes de calibration en matrice pour s'assurer d'obtenir des résultats fiables et reproductibles.

Enfin, la méthode QuEChERS n'est pas automatisable contrairement à d'autres méthodes ce qui impose la présence d'un manipulateur, augmentant les incertitudes liées à l'erreur humaine. Bien que la méthode soit plus souple que la LLE, la répétition des gestes liés aux manipulations des tubes, notamment au moment de la centrifugation et des étapes de mélange avec vortex peut engendrer des problèmes de santé chez le manipulateur.

2. Protocoles d'extractions pour les matrices liquides

2.1 Résumé

Comparées aux autres matrices analysées dans le cadre de la thèse, les eaux sont des matrices liquides plus simples et pauvres en matière organique, ce qui limite les interférences. Grâce à la collaboration avec le BRGM et le CIRAD qui participent à l'Observatoire OPALE aux Antilles françaises, nous avons pu bénéficier de précieux échantillons d'eaux de surface et souterraines pour rechercher la CLD et ses PTs. Notre cahier des charges était de développer une méthode simple, sensible et reproductible avec la contrainte des appareils disponibles au laboratoire. Pour cela, nous avons décidé de nous tourner vers la méthode SPME. Un développement analytique important a été nécessaire afin d'obtenir une méthode finale comprenant 30 organochlorés, parmi lesquels la CLD et sept PTs, ainsi que d'autres OCs et leurs dérivés possiblement présents aux Antilles françaises. La sensibilité accrue de notre méthode s'est révélée très pertinente pour les concentrations environnementales attendues. En effet, avec un équipement analytique moins sophistiqué (GC-MS équipée d'un simple quadripôle) que des laboratoires d'analyses environnementales classiques (GC-MS/MS et LC-MS/MS), nous avons pu égaler voire dépasser leurs LOQs. Dans le cadre d'un essai inter-laboratoire, nous avons pu confronter la méthode développée à celles de deux laboratoires d'analyse, le BRGM et le LDA26, qui participent depuis de nombreuses années au suivi de la pollution aux Antilles françaises à la CLD. Les résultats que nous avons obtenus pour la CLD se sont avérés parfaitement en accord avec ceux du BRGM qui utilisait une méthode LLE-GC-MS/MS. Un désaccord récurrent pour les concentrations élevées en CLD a été observé entre d'un côté nos données et celles du BRGM et de l'autre, les résultats obtenus par le LDA26. Concernant le dosage des produits de transformation quantifiés par les trois laboratoires, les concentrations en A2 se sont révélées relativement concordantes avec simplement une sur/sous-évaluation systématique sans doute liée au standard utilisé. L'analyse du CLDOH a mis en lumière de grandes disparités, notamment avec une non-détection de la molécule par le LDA26 dans de nombreux échantillons. La recherche

d'autres PTs grâce à la méthode développée a permis de révéler la présence du 10-monohydrochlorodécol et du pentachloroindène B1 dans plusieurs échantillons d'eaux, en particulier des eaux souterraines. Un travail plus large au sein de la communauté scientifique reste donc à faire pour améliorer, consolider et étendre les méthodes d'analyse réalisées en routine pour la surveillance des eaux environnementales.

2.2 Les avantages de la méthode SPME

La méthode SPME est une méthode qui permet d'extraire des composés à l'aide d'une fibre en silice recouverte d'un polymère. Ce polymère est choisi en fonction de sa polarité et de la polarité des composés afin de limiter l'extraction parallèle d'interférents matriciels. Dans le cadre du travail de thèse, nous avons sélectionné une fibre fonctionnalisée par un mélange PDMS/DVB, qui a permis d'extraire puis d'analyser en GC-MS 30 organochlorés présentant des volatilités très variées, allant du trichloréthylène ($T_{\text{éb}} = 82 \text{ °C}$) à la CLD ($T_{\text{sublim/décomp}} > 350 \text{ °C}$). Ainsi, le principe d'adsorption-désorption thermique sur une fibre permet de concentrer et sélectionner les composés en évitant toute dilution dans un solvant comme c'est le cas pour les injections liquides classiques. Cette stratégie nous a permis d'atteindre des LOQs de 9 à 15 ng.L^{-1} pour la CLD et ses PTs avec une GC-MS équipée d'un simple quadripôle. Ces LOQs sont inférieures à celles du BRGM (30 ng.L^{-1} pour CLD, CLDOH et A2) et proches du LDA26 (10 µg.L^{-1} pour CLD, CLDOH et A2). Il faut rappeler que les méthodes LLE du BRGM et du LDA26 nécessitent un plus grand volume d'échantillon (400 ml à 1 L contre 20 ml pour la méthode SPME-GC-SIM-MS). Avec un équipement équivalent à ces deux laboratoires, c'est-à-dire des instruments de type GC-MS/MS et LC-MS/MS, on pourrait atteindre des LOQs inférieures au ng.L^{-1} ce qui ouvrirait la voie à la découverte probable d'autres PTs de la CLD.

Il faut aussi souligner que la méthode SPME est généralement automatisée, ce qui signifie que seuls les gammes de calibration et l'ajout d'étalons internes dans les échantillons d'eau sont à réaliser par l'opérateur. Cela réduit les possibles erreurs du manipulateur et génère un gain de temps conséquent pour lui.

2.3 Les désavantages la méthode SPME

Il existe cependant des désavantages et des limitations à l'emploi d'une méthode SPME. En effet, la SPME s'utilise grâce à un outil intégré aux systèmes analytiques, GC ou LC. Dans notre cas, l'outil SPME étant installé sur la GC-MS, les composés uniquement analysables en LC n'ont pas pu être dosés, ce qui est le cas des PTs de la famille C, les acides polychloroindènedicarboxyliques. La régénération et le lavage de la fibre sont des étapes critiques pour conserver une bonne performance. Nous n'avons pas à notre disposition de dispositif de reconditionnement de la fibre dédiée, nous avons donc mis au point une procédure alternative afin d'éliminer le possible *carryover*.

Les fibres SPME sont composées d'une partie en silice recouverte d'un ou plusieurs polymères. Ces fibres sont donc très fragiles. Un travail préparatoire non présenté mais important a consisté à sélectionner le type de septum des flacons d'injection, la profondeur de descente de la fibre dans le flacon d'analyse spécial SPME de 20 ml et d'autres réglages analogues. Ces éléments, s'ils sont mal ajustés, conduisent à une usure prématurée de la fibre et rendent caduc l'utilisation de l'outil SPME pour effectuer des campagnes d'analyses.

3. Récapitulatif des développements analytiques réalisés

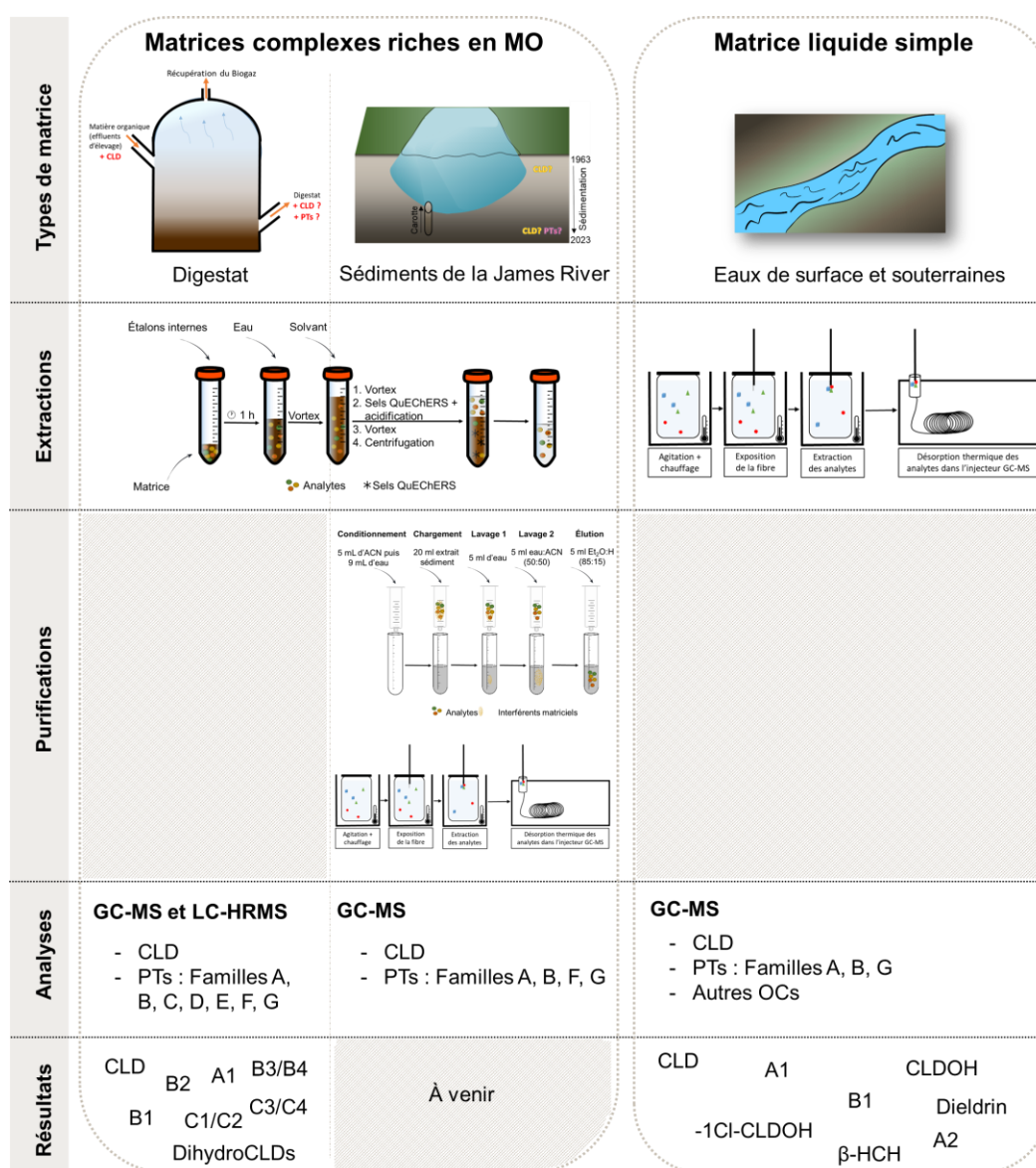


Figure 5.1. Schéma récapitulatif des différents protocoles analytiques développés et les composés détectés dans les matrices réelles

4. Perspectives

Le protocole QuEChERS est une méthode permettant l'extraction de diverses matrices, environnementales et d'origines animales (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018; Saint-Hilaire, Inthavong, et al., 2018). Cette méthode permet d'extraire la CLD et toutes les familles de PTs. Dans le cadre du projet CHLOR2NOU (financement ANR 2023-2026) porté par Pierre-Loïc Saaidi, de nouveaux développements analytiques doivent être effectués afin de rechercher plus largement les PTs de la CLD. Ainsi, différentes matrices environnementales (eaux et sols), alimentaires et issues de procédés de bio-remédiation sont ciblées. Le protocole QuEChERS pourra être adapté en prenant en compte les différentes compositions de ces matrices et les méthodes développées devront répondre à des exigences importantes en termes de LODs et de fiabilité. Le présent travail de thèse, avec les nombreuses mises au point et tests effectués (d-SPE, SPE, SPME) sera, dans ce contexte, extrêmement précieux.

L'analyse des eaux de surface et souterraines par la méthode SPME-GC-SIM-MS a souligné la présence d'autres organochlorés également utilisés par le passé aux Antilles françaises. Cela montre bien l'importance d'intégrer dans les méthodes initialement dédiées à la CLD et ses PTS, les autres organochlorés récurrents de l'environnement antillais. En effet, la variété en termes de structure, de polarité et de volatilité des PTs conduit finalement à la mise au point de méthodes à très large spectre d'utilisation. Comme nous l'avons mis en lumière, un travail important d'amélioration des analyses est encore nécessaire pour suivre les PTs de la CLD, même ceux dont les étalons sont commercialement disponibles (A2 et CLDOH) et accessibles aux laboratoires d'analyse. Notre travail a également montré l'importance du choix des étalons internes.

Enfin, les futures méthodes analytiques devront intégrer des analyses non-ciblées. Il est, en effet, important d'analyser les échantillons sans *a priori* pour permettre la découverte de composés inattendus. Récemment, cela a été le cas d'un métabolite du chlorothalonil qui n'était pas recherché systématiquement et qui s'est révélé très récurrent dans les circuits d'eau potable en France (dans 50 % des échantillons d'eau selon une étude récente de l'ANSES) (Anses, 2023). Une recherche non ciblée pourrait ainsi permettre d'éviter des risques d'exposition supplémentaire encourus par la population ou fournir des indicateurs précieux de l'évolution d'une pollution, avec notamment la découverte d'une dégradation naturelle en cours aux Antilles avec la détection de plusieurs PTs. Ces approches non ciblées sont généralement moins faciles à mettre en œuvre dans le cadre d'analyses environnementales car les seuils de sensibilité à atteindre sont très bas. D'une certaine façon, les améliorations des LOQs entre les digestats et les sédiments obtenues par des étapes de concentration/purification en conservant un appareillage GC-MS équipé d'un simple quadripôle préfigure le travail à accomplir. L'autre intérêt des analyses non ciblées est de permettre une recherche *a posteriori* de composés initialement non identifiés. Cela a été

récemment le cas avec plusieurs produits de transformation du mirex et des dechloranes découverts dans l'environnement. Leurs présences et leurs teneurs ont pu être réévaluées à l'aide d'anciennes analyses GC-HRMS (Haglund & Rebryk, 2022). Ce travail a ainsi permis de retracer de manière plus complète le devenir de ces polluants organiques persistants à l'échelle de plusieurs décennies en mer baltique. Il faut cependant souligner que ces recherches non ciblées nécessitent des appareils de haute résolution qui occasionnent un coût d'achat et d'entretien important. Dans le contexte de la pollution aux Antilles, des collaborations devront être réalisées afin de lever ses limitations et contraintes, et permettre au maximum de scientifiques d'avoir accès à des données fiables et complètes pour *in fine* produire des savoirs et apporter des solutions crédibles et viables aux populations locales.

Références

- Abe, E., Delyle, S. G., & Alvarez, J. C. (2010). Extraction liquide-liquide : Théorie, applications, difficultés. *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2), 51-59. <https://doi.org/10.1051/ata/2010018>
- Adir, J., Caplan, Y. H., & Thompson, B. C. (1978). Kepone® serum half-life in humans. *Life Sciences*, 22(8), 699-702. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(78\)90494-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(78)90494-0)
- Afssa. (2005). *Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments concernant deux projets d'arrêtés relatifs à la teneur maximale en chlordécone que doivent présenter certaines denrées d'origine végétale et d'origine animale pour être reconnues propres à la consommation humaine* (Saisine n° 2005-SA-0279). Afssa.
- Alabed Alibrahim, E., Legeay, S., Billat, P.-A., Bichon, E., Guiffard, I., Antignac, J.-P., Legras, P., Roux, J., Bristeau, S., & Clere, N. (2020). In vivo comparison of the proangiogenic properties of chlordécone and three of its dechlorinated derivatives formed by in situ chemical reduction. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 40953-40962.
- Alder, L., Greulich, K., Kempe, G., & Vieth, B. (2006). Residue analysis of 500 high priority pesticides : Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews*, 25(6), 838-865. <https://doi.org/10.1002/mas.20091>
- Alley, E. G., Layton, B. R., & Minyard, J. P. (1974). Identification of the photoproducts of the insecticides mirex and Kepone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22(3), 442-445. <https://doi.org/10.1021/jf60193a054>
- Alvarez, D. A., Huckins, J. N., Petty, J. D., Jones-Lepp, T., Stuer-Lauridsen, F., Getting, D. T., Goddard, J. P., & Gravell, A. (2007). Chapter 8 Tool for monitoring hydrophilic contaminants in water : Polar organic chemical integrative sampler (POCIS). In R. Greenwood, G. Mills, & B. Vrana (Éds.), *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 48, p. 171-197). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(06\)48008-9](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(06)48008-9)
- Amalric, L., Henry, B., & Berrehouc, A. (2006). Determination of chlordécone in soils by GC/MS. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 86(1-2), 15-24. <https://doi.org/10.1080/03067310500247637>
- American Public Health Association. (2022). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24th Edition*.
- Ampese, L. C., Sganzerla, W. G., Di Domenico Ziero, H., Mudhoo, A., Martins, G., & Forster-Carneiro, T. (2022). Research progress, trends, and updates on anaerobic digestion technology : A bibliometric analysis. *Journal of Cleaner Production*, 331, 130004. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.130004>
- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 86(2), 412-431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
- Andrade, P., & Wheeler, W. B. (1974). Biodegradation of Mirex by sewage sludge organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 11(5), 415-416. <https://doi.org/10.1007/BF01685296>
- Andrade, P., Wheeler, W. B., & Carlson, D. A. (1975). Identification of a Mirex metabolite. *Undefined*, 14, 473-479.

- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., & Cerdà, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds : A critical review. part ii. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, 655-667. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.014>
- Andreu, V., & Picó, Y. (2019). Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118, 709-721. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.038>
- Anizon, J.-Y., Lemaire, B., & Surbled, M. (2003). Extraction assistée par micro-ondes. *Techniques de l'ingénieur. Agroalimentaire*, 2(F3060), F3060.1-F3060.11.
- Anses. (2017). *Exposition des consommateurs des Antilles au chlordécone, résultats de l'étude Kannari*. Anses.
- Anses. (2023). *Campagne nationale de mesure de l'occurrence de composés émergents dans les eaux destinées à la consommation humaine : Métabolites de pesticides – Résidus d'explosifs – 1,4-dioxane* (ANSES/FGE/0043; p. 85 p.). Anses. <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABORATOIRE2022AST0255Ra.pdf>
- Arnaud, L., Charlier, J. B., Ducreux, L., & Taïlamé, A. L. (2017). *Groundwater quality assessment, Crisis Management of Chronic Pollution : Contaminated Soil and Human Health*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Arpino, P. (2007). *Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse. I*. Ed. Techniques Ingénieur.
- Arpino, P. (2009). Principe et applications de la source sous Photoionisation à Pression Atmosphérique (APPI) pour le couplage de la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse (LC-APPI/MS). *Spectra Analyse*, 226, 18-27.
- Arrêté préfectoral n° 2012335-0003 du 30 novembre 2012 réglementant la pêche et la mise sur le marché des espèces de la faune marine dans certaines zones maritimes de la Martinique en lien avec les bassins versants contaminés par la chlordécone, (2012).
- Arrêté préfectoral N°2013-057 du 26 juin 2013 réglementant la pêche et la commercialisation des espèces de la faune marine dans certaines zones maritimes de la Guadeloupe. Préfecture, Pointe-à-Pitre, (2013).
- Aue, W. A., & Kapila, S. (1973). The Electron Capture Detector-Controversies, Comments, and Chromatograms. *Journal of Chromatographic Science*, 11(5), 255-263. <https://doi.org/10.1093/chromsci/11.5.255>
- Aulakh, J. S., Malik, A. K., Kaur, V., & Schmitt-Kopplin, P. (2005). A Review on Solid Phase Micro Extraction—High Performance Liquid Chromatography (SPME-HPLC) Analysis of Pesticides. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 35(1), 71-85. <https://doi.org/10.1080/10408340590947952>
- Ayhan, G., Rouget, F., Giton, F., Costet, N., Michineau, L., Monfort, C., Thomé, J.-P., Kadhel, P., Cordier, S., Oliva, A., & Multigner, L. (2021). In Utero Chlordecone Exposure and Thyroid, Metabolic, and Sex-Steroid Hormones at the Age of Seven Years : A Study From the TIMOUN Mother-Child Cohort in Guadeloupe. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 771641.
- Badawy, M. E. I., El-Nouby, M. A. M., Kimani, P. K., Lim, L. W., & Rabea, E. I. (2022). A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis. *Analytical Sciences*, 38(12), 1457-1487. <https://doi.org/10.1007/s44211-022-00190-8>
- Balinova, A. M., & Balinov, I. (1991). Determination of herbicide residues in soil in the presence of persistent organochlorine insecticides. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 339(6), 409-412. <https://doi.org/10.1007/BF00322360>

- Barbance, A., Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Delmas, V., Muselet, D., Ugarte, E., Saaidi, P.-L., Weissenbach, J., Fischer, C., Le Paslier, D., & Fonknechten, N. (2020). Genetic Analysis of *Citrobacter* sp.86 Reveals Involvement of Corrinoids in Chlordecone and Lindane Biotransformations. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 590061.
- Barriada-Pereira, M., Concha-Graña, E., González-Castro, M. J., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., Prada-Rodríguez, D., & Fernández-Fernández, E. (2003). Microwave-assisted extraction versus Soxhlet extraction in the analysis of 21 organochlorine pesticides in plants. *Journal of Chromatography A*, *1008*(1), 115-122. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01061-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01061-6)
- Bartle, K. D., & Myers, P. (2002). History of gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *21*(9), 547-557. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00806-3)
- Baudry, T., Gismondi, E., Goût, J.-P., Arqué, A., Smith-Ravin, J., & Grandjean, F. (2022). The invasive crayfish *Cherax quadricarinatus* facing chlordecone in Martinique : Bioaccumulation and depuration study. *Chemosphere*, *286*, 131926. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131926>
- Beaugendre, J. (2005). *Rapport d'information sur l'utilisation du chlordécone et des autres pesticides dans l'agriculture martiniquaise et guadeloupéenne* (2430). Assemblée Nationale. <https://www.assemblee-nationale.fr/12/rap-info/i2430.asp>
- Belardi, R. P., & Pawliszyn, J. B. (1989). The Application of Chemically Modified Fused Silica Fibers in the Extraction of Organics from Water Matrix Samples and their Rapid Transfer to Capillary Columns. *Water Quality Research Journal*, *24*(1), 179-191. <https://doi.org/10.2166/wqrj.1989.010>
- Belghit, H., Colas, C., Bristeau, S., Mouvet, C., & Maunit, B. (2015). Liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry for identifying aqueous chlordecone hydrate dechlorinated transformation products formed by reaction with zero-valent iron. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, *95*(2), 93-105. <https://doi.org/10.1080/03067319.2014.994615>
- Bellec, S., & Godard, E. (2002). *Contamination par les produits phytosanitaires organochlorés en Martinique; caractérisation de l'exposition des populations*. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Direction de la Santé et du Développement Social de la Martinique.
- Benoit, P., Cravedi, J. P., Desenclos, J.-C., Mouvet, C., Rychen, G., & Samson, M. (2020). Environmental and human health issues related to long-term contamination by chlordecone in the French Caribbean. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(33), 40949-40952. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09531-4>
- Berrueta, L. A., Gallo, B., & Vicente, F. (1995). A review of solid phase extraction : Basic principles and new developments. *Chromatographia*, *40*(7), 474-483. <https://doi.org/10.1007/BF02269916>
- Bertin, L., Capodicasa, S., Fedi, S., Zannoni, D., Marchetti, L., & Fava, F. (2011). Biotransformation of a highly chlorinated PCB mixture in an activated sludge collected from a Membrane Biological Reactor (MBR) subjected to anaerobic digestion. *Journal of hazardous materials*, *186*(2-3), 2060-2067. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.12.131>
- Bertin, L., Capodicasa, S., Occulti, F., Girotti, S., Marchetti, L., & Fava, F. (2007). Microbial processes associated to the decontamination and detoxification of a polluted activated sludge during its anaerobic stabilization. *Water research*, *41*(11), 2407-2416. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.02.046>
- Bertrand, J., Abarnou, A., Bocquene, G., Chiffolleau, J.-F., & Reynal, L. (2009). *Diagnostic de la contamination chimique de la faune halieutique des littoraux des Antilles françaises. Campagnes 2008 en Martinique et en Guadeloupe*. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00000/6896/>

- Bharathiraja, Dr. B., Sudharsana, T., Jayamuthunagai, J., Ramanujam, P. K., Sivasankaran, C., & Iyyappan, J. (2018). Biogas production – A review on composition, fuel properties, feed stock and principles of anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*.
- Bhatt, P., Kumar, M. S., & Chakrabarti, T. (2009). Fate and Degradation of POP-Hexachlorocyclohexane. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(8), 655-695. <https://doi.org/10.1080/10643380701798306>
- Bichon, E., Guiffard, I., Vénisseau, A., Marchand, P., Antignac, J.-P., & Le Bizec, B. (2015). Ultra-trace quantification method for chlordecone in human fluids and tissues. *Journal of Chromatography A*, 1408, 169-177. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.07.013>
- Blanke, R. V., Fariss, M. W., Griffith, F. D., Jr., & Guzellan, P. (1977). Analysis of Chlordecone [Kepone®] in Biological Specimens. *Journal of Analytical Toxicology*, 1(2), 57-62. <https://doi.org/10.1093/jat/1.2.57>
- Blaženović, I., Kind, T., Ji, J., & Fiehn, O. (2018). Software Tools and Approaches for Compound Identification of LC-MS/MS Data in Metabolomics. *Metabolites*, 8(2), 31. <https://doi.org/10.3390/metabo8020031>
- Bonan, H., & Prime, J. L. (2001). Rapport sur la présence de pesticides dans les eaux de consommation humaine en Guadeloupe. *Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement*.
- Bonnefoy, N. (2012). *Pesticides : Vers le risque zéro* (Rapport d'information 42). Sénat. <https://www.senat.fr/rap/r12-042-1/r12-042-1.html>
- Bonvallot, N., & Dor, F. (2004). *Insecticides organochlorés aux Antilles : Identification des dangers et valeurs toxicologiques de référence (VTR)* (p. 1-52). Institut de veille scientifique. https://www.chlordecone-infos.fr/sites/default/files/documents/11_insecticides_organochlores_Antilles_VTR.pdf
- Borsetti, A. P., & Roach, J. A. (1978). Identification of kepone alteration products in soil and mullet. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 20(2), 241-247. <https://doi.org/10.1007/bf01683515>
- Bosman, P., Combès, A., Lambert, M., Lavison-Bompard, G., & Pichon, V. (2021). *Development and Application of Molecularly Imprinted Polymers for the Selective Extraction of Chlordecone from Bovine Serum*. 8(12), 237. <https://doi.org/10.3390/separations8120237>
- Botter, R., & Bouchoux, G. (1995). Spectrométrie de masse. *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation*, 3(P2615), P2615-1.
- Boucher, O., Simard, M.-N., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Chajès, V., Dallaire, R., Monfort, C., Thomé, J.-P., Multigner, L., & Cordier, S. (2013). Exposure to an organochlorine pesticide (chlordecone) and development of 18-month-old infants. *NeuroToxicology*, 35, 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2013.01.007>
- Bouchet Bert-Manoz, R. (2014). L'état supercritique en sciences de la Terre. *Planet Terre*. <https://planet-terre.ens-lyon.fr/ressource/fluide-supercritique.xml>
- Bouchon, C., & Lemoine, S. (2003). Niveau de contamination par les pesticides des chaînes trophiques des milieux marins côtiers de la Guadeloupe et recherche de biomarqueurs de génotoxicité. *Pointe-à-Pitre: Rapport UAG-DIREN*.
- Boylan, J. J., Cohn, W. J., Egle Jr., J. L., Blanke, R. V., & Guzelian, P. S. (1979). Excretion of chlordecone by the gastrointestinal tract: Evidence for a nonbiliary mechanism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 25(5part1), 579-585. <https://doi.org/10.1002/cpt1979255part1579>

- Brahushi, F., Dörfler, U., Schroll, R., & Munch, J. C. (2004). Stimulation of reductive dechlorination of hexachlorobenzene in soil by inducing the native microbial activity. *Chemosphere*, 55(11), 1477-1484. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.01.022>
- Bristeau, S., Amalric, L., & Mouvet, C. (2012). *Validation d'une méthode d'analyse de la chlordécone pour l'application au suivi des procédés de dépollution des sols Antillais* (Rapport final BRGM/RP-60469-FR).
- Bristeau, S., & Ghestem, J.-P. (2012). *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.
- Brondi, S. H. G., & Lanças, F. M. (2005). Optimization of a Methodology for the Determination of Organochlorine Pesticides in Surface Water by SPME-GC /MS. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 40(4), 513-523. <https://doi.org/10.1081/PFC-200061508>
- Brureau, L., Emeville, E., Helissey, C., Thome, J. P., Multigner, L., & Blanchet, P. (2020). Endocrine disrupting-chemicals and biochemical recurrence of prostate cancer after prostatectomy : A cohort study in Guadeloupe (French West Indies). *International Journal of Cancer*, 146(3), 657-663. <https://doi.org/10.1002/ijc.32287>
- Bunge, M., Adrian, L., Kraus, A., Opel, M., Lorenz, W. G., Andreesen, J. R., Görisch, H., & Lechner, U. (2003). Reductive dehalogenation of chlorinated dioxins by an anaerobic bacterium. *Nature*, 421(6921), 357-360.
- Burgot, G. (2019). Microextraction en phase solide (SPME). In *Techniques de l'ingénieur Techniques d'analyse: Vol. base documentaire : TIP630WEB*. (Numéro ref. article : p1430). Editions T.I. <https://doi.org/10.51257/a-v2-p1430>
- Burse, V. W., Head, S. L., McClure, P. C., Korver, M. P., Alley, C. C., Phillips, D. L., Needham, L. L., Rowley, D. L., & Kahn, S. E. (1989). Partitioning of mirex between adipose tissue and serum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37(3), 692-699. <https://doi.org/10.1021/jf00087a025>
- Buswell, A. M., & Hatfield, W. D. (1936). Anaerobic fermentations. *Bulletin (Illinois State Water Survey) No. 32*. <https://hdl.handle.net/2142/94555>
- Buszewski, B., & Szultka, M. (2012). Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction : A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(3), 198-213. <https://doi.org/10.1080/07373937.2011.645413>
- 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. *Environmental pollution*, 157(5), 1697-1705. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.015>
- Cabidoche, Y.-M., Jannoyer, M., & Vannière, H. (2006). *Conclusions du Groupe d'étude et de prospective. Pollution par les organochlorés aux Antilles : Aspects agronomiques*.
- Cabidoche, Y.-M., & Lesueur-jannoyer, M. (2012). Contamination of Harvested Organs in Root Crops Grown on Chlordecone-Polluted Soils. *Pedosphere*, 22(4), 562-571. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60041-1](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60041-1)
- Cabidoche, Y.-M., Lesueur-Jannoyer, M., & Vannière, H. (2006). Conclusions du groupe d'étude et de prospective «Pollution par les organochlorés aux Antilles : Aspects agronomiques». *Contribution CIRAD INRA*.

- Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction : Their potential and pitfalls. *Analyst*, 126(7), 1182-1193. <https://doi.org/10.1039/B008243K>
- Cannon, S. B., Veazey, J. M., JR, Jackson, R. S., Burse, V. W., Hayes, C., Straub, W. E., Landrigan, P. J., & Liddle, JohnA. (1978). Epidemic Kepone poisoning in chemical workers. *American Journal of Epidemiology*, 107(6), 529-537. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112572>
- Caplan, Y. H., Thompson, B. C., & Hebb, J. H., Jr. (1979). A Method for the Determination of Chlordecone (Kepone) in Human Serum and Blood. *Journal of Analytical Toxicology*, 3(5), 202-205. <https://doi.org/10.1093/jat/3.5.202>
- Cappiello, A., Pierini, E., & Palma, P. (2011). An SPE Method for the Concurrent Extraction of Organochlorine and Phenoxy Acidic Pesticides in River Water. *Chromatographia*, 73(7), 691-699. <https://doi.org/10.1007/s10337-011-1971-0>
- Carlson, D. A., Konyha, K. D., Wheeler, W. B., Marshall, G. P., & Zaylskie, R. G. (1976). Mirex in the Environment: Its Degradation to Kepone and Related Compounds. *Science*, 194(4268), 939-941. <https://doi.org/10.1126/science.62396>
- Carroll, D. I., Dzidic, I., Stillwell, R. N., Haegele, K. D., & Horning, E. C. (1975). Atmospheric pressure ionization mass spectrometry. Corona discharge ion source for use in a liquid chromatograph-mass spectrometer-computer analytical system. *Analytical Chemistry*, 47(14), 2369-2373. <https://doi.org/10.1021/ac60364a031>
- Carroll, K. K. (1961). Separation of lipid classes by chromatography on florisil. *Journal of Lipid Research*, 2(2), 135-141. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)39021-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)39021-0)
- Carver, R. A., & Griffith, F. D. (1979). Determination of kepone dechlorination products in finfish, oysters, and crustaceans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(5), 1035-1037. <https://doi.org/10.1021/jf60225a005>
- Casado, N., Morante-Zarcero, S., & Sierra, I. (2022). Application of the QuEChERS Strategy as a Useful Sample Preparation Tool for the Multiresidue Determination of Pyrrolizidine Alkaloids in Food and Feed Samples: A Critical Overview. *Applied Sciences*, 12(9), 4325. <https://doi.org/10.3390/app12094325>
- Cattan, P., Charlier, J.-B., Clostre, F., Letourmy, P., Arnaud, L., Gresser, J., & Jannoyer, M. (2019). A conceptual model of organochlorine fate from a combined analysis of spatial and mid- to long-term trends of surface and ground water contamination in tropical areas (FWI). *Hydrology and Earth System Sciences*, 23(2), 691-709. <https://doi.org/10.5194/hess-23-691-2019>
- Caude, M., & Jardy, A. (1994). Chromatographie en phase, liquide : Théorie et méthodes de séparation. *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation*, 2(P1455), p1455. 1-p1455. 44.
- Chanioti, S., Liadakis, G., & Tzia, C. (2014). Solid-Liquid Extraction. In *Food Engineering Handbook : Food Process Engineering* (Vol. 2, p. 247-280).
- Charlier, J.-B., Arnaud, L., Ducreux, L., Ladouche, B., Dewandel, B., Plet, J., Lesueur Jannoyer, M., & Cattan, P. (2015). *CHLOR-EAU-SOL. Caractérisation de la contamination par la chlordécone des eaux et des sols des bassins versants pilotes Guadeloupéen et Martiniquais : Rapport final*.
- Chaussonnerie, S., Saaidi, P.-L., Ugarte, E., Barbance, A., Fossey, A., Barbe, V., Gyapay, G., Bröls, T., Chevallier, M., Couturat, L., Fouteau, S., Muselet, D., Pateau, E., Cohen, G. N., Fonknechten, N., Weissenbach, J., & Le Paslier, D. (2016). Microbial Degradation of a Recalcitrant Pesticide : Chlordecone. *Frontiers in Microbiology*, 7, 2025. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02025>
- Chemat, F., & Cravotto, G. (2012). *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds : Theory and Practice* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.

- Chemical ionization. (2023). In *Wikipedia*. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chemical_ionization&oldid=1158637365
- Chevallier, M., Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Barbance, A., Muselet, D., Lagarde, F., Darii, E., Ugarte, E., Lescop, E., Fonknechten, N., Weissenbach, J., Woignier, T., Gallard, J.-F., Vuilleumier, S., Imfeld, G., Le Paslier, D., & Saaidi, P.-L. (2019). Natural Chlordecone Degradation Revealed by Numerous Transformation Products Characterized in Key French West Indies Environmental Compartments. *Environmental Science & Technology*, 53(11), 6133-6143. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06305>
- Chopra, A. K., Sharma, M. K., & Chamoli, S. (2011). Bioaccumulation of organochlorine pesticides in aquatic system—An overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, 173(1), 905-916. <https://doi.org/10.1007/s10661-010-1433-4>
- Christiansen, N., Hendriksen, H. V., Jarvinen, K. T., & Ahring, B. K. (1995). Degradation of chlorinated aromatic compounds in UASB reactors. *Biological Degradation of Organic Chemical Pollutants in Biofilm Systems*, 31(1), 249-259. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00172-J](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00172-J)
- Chung, S. W. C., & Chen, B. L. S. (2011). Determination of organochlorine pesticide residues in fatty foods : A critical review on the analytical methods and their testing capabilities. *Journal of Chromatography A*, 1218(33), 5555-5567. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.066>
- Cimetiere, N., Giraudet, S., Papazoglou, M., Fallou, H., Amrane, A., & Le Cloirec, P. (2014). Analysis of chlordecone by LC/MS–MS in surface and wastewaters. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(2), 849-856. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.01.010>
- CIRAD. (2018). *La diffusion de la chlordécone dans l'environnement*. <https://www.martinique.ars.sante.fr/media/17246/download?inline>
- Clere, N., Lauret, E., Malthiery, Y., Andriantsitohaina, R., & Faure, S. (2012). Estrogen receptor alpha as a key target of organochlorines to promote angiogenesis. *Angiogenesis*, 15(4), 745-760. <https://doi.org/10.1007/s10456-012-9288-7>
- Clostre, F., Cattan, P., Gaude, J.-M., Carles, C., Letourmy, P., & Lesueur-Jannoyer, M. (2015). Comparative fate of an organochlorine, chlordecone, and a related compound, chlordecone-5b-hydro, in soils and plants. *Science of The Total Environment*, 532, 292-300. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.026>
- Clostre, F., Lesueur-Jannoyer, M., Achard, R., Letourmy, P., Cabidoche, Y.-M., & Cattan, P. (2014). Decision support tool for soil sampling of heterogeneous pesticide (chlordecone) pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(3), 1980-1992. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2095-x>
- Clostre, F., Letourmy, P., Thuriès, L., & Lesueur-Jannoyer, M. (2014). Effect of home food processing on chlordecone (organochlorine) content in vegetables. *Science of the total environment*, 490, 1044-1050. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.082>
- Coat, S., Bocquené, G., & Godard, E. (2006). Contamination of some aquatic species with the organochlorine pesticide chlordecone in Martinique. *Aquatic Living Resources*, 19(2), 181-187. <https://doi.org/10.1051/alr:2006016>
- Cohn, W. J., Boylan, J. J., Blanke, R. V., Fariss, M. W., Howell, J. R., & Guzelian, P. S. (1978). Treatment of chlordecone (Kepone) toxicity with cholestyramine : Results of a controlled clinical trial. *New England Journal of Medicine*, 298(5), 243-248. <https://doi.org/10.1056/NEJM197802022980504>
- Collas, C., Gourdine, J.-L., Beramice, D., Badot, P.-M., Feidt, C., & Jurjanz, S. (2023). Soil ingestion, a key determinant of exposure to environmental contaminants. The case study of chlordecone exposure in free-range pigs in the French West Indies. *Environmental Pollution*, 316, 120486. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120486>

- Colmet-Daage, F., & Lagache, P. (1965). Caractéristiques de quelques groupes de sols dérivés de roches volcaniques aux Antilles françaises. *Cahiers ORSTOM. Série pédologie*, 8, 91-121.
- Columé, A., Cárdenas, S., Gallego, M., & Valcárcel, M. (2001). A solid phase extraction method for the screening and determination of pyrethroid metabolites and organochlorine pesticides in human urine. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15(21), 2007-2013. <https://doi.org/10.1002/rcm.471>
- Comte, I., Pradel, A., Crabit, A., Mottes, C., Pak, L. T., & Cattan, P. (2022). Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies : New insights and improvement of previous predictions. *Environmental Pollution*, 303, 119091. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119091>
- Concha-Graña, E., Fernández-González, V., Grueiro-Noche, G., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., Fernández-Fernández, E., & Prada-Rodríguez, D. (2010). Development of an environmental friendly method for the analysis of organochlorine pesticides in sediments. *Chemosphere*, 79(7), 698-705. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.052>
- Čonka, K., Drobná, B., Kočan, A., & Petřík, J. (2005). Simple solid-phase extraction method for determination of polychlorinated biphenyls and selected organochlorine pesticides in human serum. *Journal of Chromatography A*, 1084(1), 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.11.029>
- Correia-Sá, L., Fernandes, V. C., Carvalho, M., Calhau, C., Domingues, V. F., & Delerue-Matos, C. (2012). Optimization of QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in soils with diverse organic matter. *Journal of Separation Science*, 35(12), 1521-1530. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200087>
- Costet, N., Pelé, F., Comets, E., Rouget, F., Monfort, C., Bodeau-Livinec, F., Linganiza, E. M., Bataille, H., Kadhel, P., Multigner, L., & Cordier, S. (2015). Perinatal exposure to chlordecone and infant growth. *Environmental Research*, 142, 123-134. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.023>
- Crabit, A., Cattan, P., Colin, F., & Voltz, M. (2016). Soil and river contamination patterns of chlordecone in a tropical volcanic catchment in the French West Indies (Guadeloupe). *Environmental Pollution*, 212, 615-626. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.02.055>
- Cruz-González, G., Julcour, C., Chaumat, H., Bourdon, V., Ramon-Portugal, F., Gaspard, S., Jáuregui-Haza, U. J., & Delmas, H. (2018). Degradation of chlordecone and beta-hexachlorocyclohexane by photolysis, (photo-)fenton oxidation and ozonation. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 53(2), 121-125. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1388682>
- Cutshall, N. H., Larsen, I. L., & Nichols, M. M. (1981). Man-Made Radionuclides Confirm Rapid Burial of Kepone in James River Sediments. *Science*, 213(4506), 440-442. <https://doi.org/10.1126/science.213.4506.440>
- DAAF. (2018, juillet 31). *Pollution des terres agricoles des Antilles par la chlordécone*. <https://daaf.martinique.agriculture.gouv.fr/pollution-des-terres-agricoles-des-antilles-par-la-chlordecone-r271.html>
- Dallaire, R., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Guldner, L., Seurin, S., Chajès, V., Monfort, C., Boucher, O., Pierre Thomé, J., Jacobson, S. W., Multigner, L., & Cordier, S. (2012). Cognitive, visual, and motor development of 7-month-old Guadeloupean infants exposed to chlordecone. *Environmental Research*, 118, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.07.006>
- Das, S. (2014). Recent Developments in Clean up Techniques of Pesticide Residue Analysis for Toxicology Study: A Critical Review. *Universal Journal of Agricultural Research*, 2, 198-202. <https://doi.org/10.13189/ujar.2014.020603>
- da Silva Sousa, J., do Nascimento, H. O., de Oliveira Gomes, H., & do Nascimento, R. F. (2021). Pesticide residues in groundwater and surface water : Recent advances in solid-phase extraction

- and solid-phase microextraction sample preparation methods for multiclass analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 168, 106359. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106359>
- Dawson, G. W., Weimer, W. C., & Shupe, S. J. (1979). Kepone—A case study of a persistent materiel. *Water-American Institute of Chemical Engineers*.
- De Hoffmann, E., & Stroobant, V. (2007). *Mass Spectrometry : Principles and Applications*. John Wiley & Sons.
- Delfosse, V., Grimaldi, M., Cavailès, V., Balaguer, P., & Bourguet, W. (2014). Structural and functional profiling of environmental ligands for estrogen receptors. *Environmental health perspectives*, 122(12), 1306-1313. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408453>
- de Lima e Silva, M. R., Motteran, F., Sakamoto, I. K., & Varesche, M. B. A. (2016). Anaerobic Toxicity Assay of Polychlorinated Biphenyl : Focus on Fermentative-Methanogenic Community. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(9), 316. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-3016-7>
- Della Rossa, P., Jannoyer, M., Mottes, C., Plet, J., Bazizi, A., Arnaud, L., Jestin, A., Woignier, T., Gaude, J.-M., & Cattani, P. (2017). Linking current river pollution to historical pesticide use : Insights for territorial management? *Science of The Total Environment*, 574, 1232-1242. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.065>
- Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Fonknechten, N., Barbance, A., Muselet, D., Martin, D. E., Fouteau, S., Fischer, C., Saaidi, P.-L., & Le Paslier, D. (2020). Transformation of the recalcitrant pesticide chlordecone by *Desulfovibrio* sp. 86 with a switch from ring-opening dechlorination to reductive sulfidation activity. *Scientific reports*, 10(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70124-9>
- Dereumeaux, C., Saoudi, A., Guldner, L., Pecheux, M., Chesneau, J., Thomé, J.-P., Ledrans, M., Tertre, A. L., Denys, S., & Fillol, C. (2020). Chlordecone and organochlorine compound levels in the French West Indies population in 2013–2014. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 41033-41045. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07181-9>
- Derouiche, A., Driss, M. R., Morizur, J.-P., & Taphanel, M.-H. (2007). Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in water by headspace solid-phase microextraction with gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1138(1), 231-243. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.064>
- Desaiah, D., & Koch, R. B. (1975). Inhibition of ATPases activity in channel catfish brain by Kepone and its reduction product. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 13, 153-158.
- Desprats, J.-F. (2021). *Poursuite de la cartographie sur la contamination des sols par la chlordécone—2019-2021* (Rapport final BRGM RP-71040-FR).
- Desrochers-Couture, M., Cordier, S., Rouget, F., Michineau, L., Monfort, C., Thomé, J.-P., Kadhel, P., Multigner, L., & Muckle, G. (2022). Visuospatial processing and fine motor function among 7-years old Guadeloupe children pre- and postnatally exposed to the organochlorine pesticide chlordecone. *NeuroToxicology*, 88, 208-215. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.12.003>
- Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). Microwave-assisted Extraction. In *Natural Product Extraction : Principles and Applications* (Vol. 4, p. 113-156). London, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Devault, D. A., Amalric, L., & Bristeau, S. (2018). Chlordecone consumption estimated by sewage epidemiology approach for health policy assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(29), 29633-29642. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2995-x>
- Devault, D. A., Laplanche, C., Pascaline, H., Bristeau, S., Mouvet, C., & Macarie, H. (2016). Natural transformation of chlordecone into 5b-hydrochlordecone in French West Indies soils : Statistical

- evidence for investigating long-term persistence of organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 81-97. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4865-0>
- Devault, D. A., Massat, F., Lambourdière, J., Maridakis, C., Dupuy, L., Péné-Annette, A., & Dolique, F. (2022). Micropollutant content of Sargassum drifted ashore: Arsenic and chlordecone threat assessment and management recommendations for the Caribbean. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(44), 66315-66334. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20300-3>
- Devriendt-Renault, Y., Massat, F., Guérin, T., & Parinet, J. (2023). Impact of classical home cooking processes on chlordecone and chlordecol concentrations in animal products originated from French West Indies. *Food Control*, 152, 109871. <https://doi.org/10.1016/j.food-cont.2023.109871>
- Dias, N. C., & Poole, C. F. (2002). Mechanistic study of the sorption properties of OASIS® HLB and its use in solid-phase extraction. *Chromatographia*, 56(5), 269-275. <https://doi.org/10.1007/BF02491931>
- Dole, M., Mack, L. L., Hines, R. L., Mobley, R. C., Ferguson, L. D., & Alice, M. B. (2003). Molecular Beams of Macroions. *The Journal of Chemical Physics*, 49(5), 2240-2249. <https://doi.org/10.1063/1.1670391>
- Dolfing, J., van Eekert, M., Seech, A., Vogan, J., & Mueller, J. (2007). In Situ Chemical Reduction (ISCR) Technologies: Significance of Low Eh Reactions. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 17(1), 63-74. <https://doi.org/10.1080/15320380701741438>
- Dong, C., Zeng, Z., & Yang, M. (2005). Determination of organochlorine pesticides and their derivations in water after HS-SPME using polymethylphenylvinylsiloxane-coated fiber by GC-ECD. *Water Research*, 39(17), 4204-4210. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.08.004>
- Doong, R.-A., & Liao, P.-L. (2001). Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil samples using headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 918(1), 177-188. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00740-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00740-3)
- Driscoll, J. N., Conron, D. W., Ferioli, P., Krull, I. S., & Xie, K.-H. (1984). Trace analysis of organic compounds by high-performance liquid chromatography with photoionization detection. *Journal of Chromatography A*, 302, 43-50. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)88997-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)88997-4)
- Dromard, C. R., Allenou, J.-P., Tapie, N., Budzinski, H., Cimmaterra, N., De Rock, P., Arkam, S., Cordonnier, S., Gonzalez, J.-L., Bouchon-Navaro, Y., Bouchon, C., & Thouard, E. (2022). Temporal variations in the level of chlordecone in seawater and marine organisms in Martinique Island (Lesser Antilles). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54), 81546-81556. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21528-9>
- Dromard, C. R., Bodiguel, X., Lemoine, S., Bouchon-Navaro, Y., Reynal, L., Thouard, E., & Bouchon, C. (2016). Assessment of the contamination of marine fauna by chlordecone in Guadeloupe and Martinique (Lesser Antilles). *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 73-80. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4732-z>
- Dromard, C. R., Devault, D. A., Bouchon-Navaro, Y., Allénu, J.-P., Budzinski, H., Cordonnier, S., Tapie, N., Reynal, L., Lemoine, S., & Thomé, J.-P. (2022). Environmental fate of chlordecone in coastal habitats: Recent studies conducted in Guadeloupe and Martinique (Lesser Antilles). *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 51-60. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04661-w>
- Duodu, G. O., Goonetilleke, A., & Ayoko, G. A. (2016). Optimization of in-cell accelerated solvent extraction technique for the determination of organochlorine pesticides in river sediments. *Talanta*, 150, 278-285. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.12.049>

- Eberherr, W., Buchberger, W., Hertsens, R., & Klampfl, C. W. (2010). Investigations on the Coupling of High-Performance Liquid Chromatography to Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 82(13), 5792-5796. <https://doi.org/10.1021/ac1008496>
- El-Osmani, R., Net, S., Dumoulin, D., Baroudi, M., Bakkour, H., & Ouddane, B. (2014). Solid phase extraction of organochlorine pesticides residues in groundwater (Akkar Plain, North Lebanon). *International Journal of Environmental Research*, 8, 903-912.
- Emond, C., & Multigner, L. (2022). Chlordecone : Development of a physiologically based pharmacokinetic tool to support human health risks assessments. *Archives of Toxicology*, 96(4), 1009-1019. <https://doi.org/10.1007/s00204-022-03231-3>
- EPA. (2007a). *Method 3545A. Pressurized fluid extraction (PFE) (SW-846 Ch 4.2.1)*.
- EPA. (2007b). *Method 3562. Supercritical Fluid Extraction of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Organochlorine Pesticides (OCPs) (SW-846)*.
- Epstein, S. S. (1978). Kepone-Hazard evaluation. *Science of The Total Environment*, 9(1), 1-62. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(78\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(78)90002-5)
- Esegni, V. A., Kofa, G. P., Koungou, S. N., & Kayem, J. (2019). Chlordecone dechlorination under aerobic conditions by Bacillus sp. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 26(2), 545-555. Technology Collection.
- Fariss, M. W., Blanke, R. V., Saady, J. J., & Guzelian, P. S. (1980). Demonstration of major metabolic pathways for chlordecone (kepone) in humans. *Drug Metabolism and Disposition*, 8(6), 434.
- Fariss, M. W., Smith, J. D., Blanke, R. V., & Guzelian, P. S. (1982). Convenient preparation of chlordecone alcohol (kepone alcohol) and its deuterated, tritiated and dechlorinated derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(1), 185-187.
- Fathepure, B. Z., Tiedje, J. M., & Boyd, S. A. (1988). Reductive dechlorination of hexachlorobenzene to tri- and dichlorobenzenes in anaerobic sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(2), 327-330. <https://doi.org/10.1128/aem.54.2.327-330.1988>
- Fernández-Bayo, J. D., Saison, C., Voltz, M., Disko, U., Hofmann, D., & Berns, A. E. (2013). Chlordecone fate and mineralisation in a tropical soil (andosol) microcosm under aerobic conditions. *Science of The Total Environment*, 463-464, 395-403. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.044>
- Ferry, J. G. (2010). CO in methanogenesis. *Annals of microbiology*, 60, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s13213-009-0008-5>
- Figge, K., & Rehm, H. (1977). Über das Verhalten des Insektizids Kelevan und seiner Abbauprodukte im Ökosystem „Kartoffelacker“ / On the behaviour of the insecticide « Kelevan » and its metabolites in the ecological system « potato field ». *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection*, 84(7/8), 385-409.
- Fisher, D. J., & Clark, J. R. (1990). Bioaccumulation of Kepone by grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) : Importance of dietary accumulation and food ration. *Aquatic Toxicology*, 17(2), 167-186. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(90\)90029-O](https://doi.org/10.1016/0166-445X(90)90029-O)
- Fourcot, A., Feidt, C., Bousquet-Mélou, A., Ferran, A. A., Gourdine, J.-L., Bructer, M., Joaquim-Justo, C., Rychen, G., & Fournier, A. (2020). Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach. *Chemosphere*, 250, 126151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126151>
- Fourcot, A., Feidt, C., Le Roux, Y., Thomé, J.-P., Rychen, G., & Fournier, A. (2021). Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration. *Chemosphere*, 277, 130340. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130340>

- Fournier, A., Feidt, C., Lastel, M.-L., Archimede, H., Thome, J.-P., Mahieu, M., & Rychen, G. (2017). Toxicokinetics of chlordecone in goats : Implications for risk management in French West Indies. *Chemosphere*, 171, 564-570. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.054>
- Francis, B. M., & Metcalf, R. L. (1984). Evaluation of mirex, photomirex and chlordecone in the terrestrial aquatic laboratory model ecosystem. *Environmental Health Perspectives*, 54, 341-346. <https://doi.org/10.1289/ehp.8454341>
- Ganzler, K., Salgó, A., & Valkó, K. (1986). Microwave extraction : A novel sample preparation method for chromatography. *Journal of Chromatography A*, 371, 299-306. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)94714-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)94714-4)
- Gaskell, S. J. (1997). Electrospray : Principles and Practice—Gaskell. *Journal of mass spectrometry*, 32, 677-688. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9888\(199707\)32:7%3C677::AID-JMS536%3E3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9888(199707)32:7%3C677::AID-JMS536%3E3.0.CO;2-G)
- Gely-Pernot, A., Hao, C., Legoff, L., Multigner, L., D'Cruz, S. C., Kervarrec, C., Jégou, B., Tevosian, S., & Smagulova, F. (2018). Gestational exposure to chlordecone promotes transgenerational changes in the murine reproductive system of males. *Scientific Reports*, 8(1), 10274. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28670-w>
- George, S. E., & Claxton, L. D. (1988). Biotransformation of chlordecone by *Pseudomonas* species. *Xenobiotica*, 18(4), 407-416. <https://doi.org/10.3109/00498258809041677>
- George, S. E., King, L. C., & Claxton, L. D. (1986). High-performance liquid chromatography separation of chlordecone and its metabolites. *Chromatographia*, 22(1), 165-167. <https://doi.org/10.1007/BF02257320>
- Gfrerer, M., & Lankmayr, E. (2005). Screening, optimization and validation of microwave-assisted extraction for the determination of persistent organochlorine pesticides. *Analytica Chimica Acta*, 533(2), 203-211. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.11.016>
- Ghatak, M., & Mahanta, P. (2014). COMPARISON OF KINETIC MODELS FOR BIOGAS PRODUCTION RATE FROM SAW DUST. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 03(07), 248-254. <https://doi.org/10.15623/ijret.2014.0307042>
- Giedyk, M., Goliszewska, K., & Gryko, D. (2015). Vitamin B 12 catalysed reactions. *Chemical Society Reviews*, 44(11), 3391-3404. <https://doi.org/10.1039/C5CS00165J>
- Giergielewicz-Możajska, H., Dąbrowski, Ł., & Namieśnik, J. (2001). Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the Analysis of Environmental Solid Samples—Some Aspects of Theory and Practice. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(3), 149-165. <https://doi.org/10.1080/20014091076712>
- Gilbert, E. E., & Giolito, S. L. (1952). *Process for preparing decachloro-tetrahydro-4,7-methanoindene-one* (United States Brevet US2616928A). <https://patents.google.com/patent/US2616928/en>
- Gilbert, E. E., Lombardo, P., Rumanowski, E. J., & Walker, G. L. (1966a). Formation and Evaluation of Derivatives, Preparation and Insecticidal Evaluation of Alcoholic Analogs of Kepone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 14(2), 111-114. <https://doi.org/10.1021/jf60144a004>
- Gilbert, E. E., Lombardo, P., Rumanowski, E. J., & Walker, G. L. (1966b). Formation and Evaluation of Derivatives, Preparation and Insecticidal Evaluation of Alcoholic Analogs of Kepone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 14(2), 111-114. <https://doi.org/10.1021/jf60144a004>
- Gionfriddo, E., Souza-Silva, É. A., & Pawliszyn, J. (2015). Headspace versus Direct Immersion Solid Phase Microextraction in Complex Matrixes : Investigation of Analyte Behavior in Multicomponent Mixtures. *Analytical Chemistry*, 87(16), 8448-8456. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01850>

- Godlewska, K., Stepnowski, P., & Paszkiewicz, M. (2021). Pollutant analysis using passive samplers : Principles, sorbents, calibration and applications. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(1), 465-520. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01079-6>
- Gonçalves, C., & Alpendurada, M. F. (2004). Solid-phase micro-extraction–gas chromatography–(tandem) mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities. *Journal of Chromatography A*, 1026(1), 239-250. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.117>
- Gonçalves, C., Carvalho, J. J., Azenha, M. A., & Alpendurada, M. F. (2006). Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1110(1), 6-14. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.089>
- González-Curbelo, M. Á., Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A. V., González-Sálamo, J., Hernández-Borges, J., & Rodríguez-Delgado, M. Á. (2015). Evolution and applications of the QuEChERS method. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 169-185. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.012>
- Gourcy, L., Baran, N., & Vittecoq, B. (2009). Improving the knowledge of pesticide and nitrate transfer processes using age-dating tools (CFC, SF6, 3H) in a volcanic island (Martinique, French West Indies). *Journal of Contaminant Hydrology*, 108(3), 107-117. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2009.06.004>
- Griffin, G. W., & Price, A. K. (1964). Perchloro Cage Compounds. I. Structural Studies1. *The Journal of Organic Chemistry*, 29(11), 3192-3196.
- Griffith, F. D., & Blanke, R. V. (1974). Microcoulometric determination of organochlorine pesticides in human blood. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 57(3), 595-603. <https://doi.org/10.1093/jaoac/57.3.595>
- Gross, J. H. (2006). *Mass Spectrometry : A Textbook*. Springer Science & Business Media.
- Gunnerson, C. G., & Stuckey, D. C. (1986). Anaerobic Digestion. *World Bank Technical Paper*, 49, 2181-2187.
- Guzelian, P. S., Vranian, G., Boylan, J. J., Corn, W. J., & Blanke, R. V. (1980). Liver structure and function in patients poisoned with chlordecone (Kepone). *Gastroenterology*, 78(2), 206-213. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(80\)90566-1](https://doi.org/10.1016/0016-5085(80)90566-1)
- Haglund, P., & Rebryk, A. (2022). Biomagnification and temporal trends of new and emerging dechloranes and related transformation products in Baltic Sea biota. *Environmental Science & Technology Letters*, 9(5), 406-412.
- Hannay, J. B., & Hogarth, J. (1979). VI. On the solubility of solids in gases. *Proceedings of the Royal Society of London*, 29(196-199), 324-326. <https://doi.org/10.1098/rspl.1879.0054>
- Hanold, K. A., Fischer, S. M., Cormia, P. H., Miller, C. E., & Syage, J. A. (2004). Atmospheric Pressure Photoionization. 1. General Properties for LC/MS. *Analytical Chemistry*, 76(10), 2842-2851. <https://doi.org/10.1021/ac035442i>
- Hansch, C., Leo, A., & Hoekman, D. (1995). *Exploring QSAR : Hydrophobic, electronic, and steric constants* (American Chemical Society). https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/51424
- 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(3), 232-237. <https://doi.org/10.1002/bms.1200050312>

- He, D., Xia, B., Liu, J., Ding, L., & Zhou, Y. (2015). Determination of Kepone and Its Metabolite in Water and Soil by High-Performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Analytical Letters*, 48(1), 1-8. <https://doi.org/10.1080/00032719.2014.930867>
- Helaleh, M. I. H., Al-Omair, A., Ahmed, N., & Gevao, B. (2005). Quantitative determination of organochlorine pesticides in sewage sludges using Soxhlet, Soxhlet and pressurized liquid extractions and ion trap mass–mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(4), 1127-1134. <https://doi.org/10.1007/s00216-005-3215-3>
- Hellal, J., Saaidi, P.-L., Bristeau, S., Crampon, M., Muselet, D., Della-Negra, O., Mauffret, A., Mouvet, C., & Joulian, C. (2021). Microbial transformation of chlordecone and of two transformation products formed during In Situ Chemical Reduction. *Frontiers in microbiology*, 12, 742039. <https://doi.org/doi:10.3389/fmicb.2021.742039>
- Heller, S. (1999). The history of the NIST/EPA/NIH mass spectral database. *Today's Chemist at Work*, 8(2), 45-46.
- Herbert, C. G., & Johnstone, R. A. W. (2002). *Mass Spectrometry Basics*. CRC Press.
- Holliger, C., Wohlfarth, G., & Diekert, G. (1998). Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 22(5), 383-398.
- Holmstead, R. L. (1976). Studies of the degradation of mirex with an iron (II) porphyrin model system. *Journal of agricultural and food chemistry*, 24(3), 620-624.
- Hölttä, M., Zetterberg, H., Mirgorodskaya, E., Mattsson, N., Blennow, K., & Gobom, J. (2012). Peptidome Analysis of Cerebrospinal Fluid by LC-MALDI MS. *PLOS ONE*, 7(8), e42555. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042555>
- Horning, E. C., Horning, M. G., Carroll, D. I., Dzidic, I., & Stillwell, R. N. (1973). New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. *Analytical Chemistry*, 45(6), 936-943. <https://doi.org/10.1021/ac60328a035>
- Houston, T. E., Mutter, L. C., Blanke, R. V., & Guzelian, P. S. (1981). Chlordecone Alcohol Formation in the Mongolian Gerbil (*Meriones unguiculatus*): A Model for Human Metabolism of Chlordecone (Kepone). *Toxicological Sciences*, 1(3), 293-298. <https://doi.org/10.1093/toxsci/1.3.293-d>
- Howard, P. H. (1991). *Handbook of Environmental Degradation Rates*. CRC Press.
- Huggett, R. J., & Bender, M. E. (1980). Kepone in the James River. *Environmental Science & Technology*, 14(8), 918-923. <https://doi.org/10.1021/es60168a001>
- Humbert, L. (2010). Extraction en phase solide (SPE) : Théorie et applications. *Annales de Toxicologie Analytique*, 22(2), Article 2. <https://doi.org/10.1051/ata/2010010>
- Ize-Iyamu, O. K., Asia, I. O., & Ekwakhide, P. A. (2007). Concentrations of residues from organochlorine pesticide in water and fish from some rivers in Edo State Nigeria. *International Journal of Physical Sciences*, 2(9), 237-241.
- Jabali, Y., Millet, M., & El-Hoz, M. (2019). Optimization of a DI-SPME-GC–MS/MS method for multi-residue analysis of pesticides in waters. *Microchemical Journal*, 147, 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.03.004>
- Jablonski, P. E., Lu, W.-P., Ragsdale, S. W., & Ferry, J. G. (1993). Characterization of the metal centers of the corrinoid/iron-sulfur component of the CO dehydrogenase enzyme complex from *Methanosarcina thermophila* by EPR spectroscopy and spectroelectrochemistry. *Journal of Biological Chemistry*, 268(1), 325-329.

- Jablonski, P. E., Pheasant, D. J., & Ferry, J. G. (1996). Conversion of Kepone by *Methanosarcina thermophila*. *FEMS Microbiology Letters*, *139*(2-3), 169-173. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08198.x>
- James, A. T., & Martin, A. J. P. (1952). Gas-liquid partition chromatography : The separation and micro-estimation of volatile fatty acids from formic acid to dodecanoic acid. *Biochemical Journal*, *50*(5), 679-690. <https://doi.org/10.1042%2Fbj0520238>
- James, A. T., & Martin, A. J. P. (1956). The separation and identification of some volatile paraffinic, naphthentic, olefinic and aromatic hydrocarbons. *Journal of Applied Chemistry*, *6*(3), 105-115. <https://doi.org/10.1002/jctb.5010060305>
- Jayashree, R., & Vasudevan, N. (2007). Organochlorine pesticide residues in ground water of Thiruvallur district, India. *Environmental Monitoring and Assessment*, *128*(1), 209-215. <https://doi.org/10.1007/s10661-006-9306-6>
- Jensen, S., Göthe, R., & Kindstedt, M.-O. (1972). Bis-(p-chlorophenyl)-acetonitrile (DDN), a new DDT derivative formed in anaerobic digested sewage sludge and lake sediment. *Nature*, *240*(5381), 421-422.
- Jin, X., Wu, Y., Santhamoorthy, M., Nhi Le, T. T., Le, V. T., Yuan, Y., & Xia, C. (2022). Volatile organic compounds in water matrices : Recent progress, challenges, and perspective. *Chemosphere*, *308*, 136182. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136182>
- Jondreville, C., Lavigne, A., Jurjanz, S., Dalibard, C., Liabeuf, J.-M., Clostre, F., & Lesueur-Jannoyer, M. (2014). Contamination of free-range ducks by chlordecone in Martinique (French West Indies) : A field study. *Science of the total environment*, *493*, 336-341. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.083>
- Kadhel, P., Monfort, C., Costet, N., Rouget, F., Thomé, J.-P., Multigner, L., & Cordier, S. (2014). Chlordecone exposure, length of gestation, and risk of preterm birth. *American journal of epidemiology*, *179*(5), 536-544. <https://doi.org/10.1093/aje/kwt313>
- Kafaei, R., Arfaeina, H., Savari, A., Mahmoodi, M., Rezaei, M., Rayani, M., Sorial, G. A., Fattahi, N., & Ramavandi, B. (2020). Organochlorine pesticides contamination in agricultural soils of southern Iran. *Chemosphere*, *240*, 124983. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124983>
- Kafilzadeh, F., Shiva, A. H., Malekpour, R., & Azad, H. (2012). Determination of Organochlorine Pesticide Residues in Water, Sediments and Fish from Lake Parishan, Iran. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, *4*, 150-154. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjfm.2012.04.02.56399>
- Kaiser, K. L. E. (1978). Pesticide Report : The rise and fall of mirex. *Environmental Science & Technology*, *12*(5), 520-528. <https://doi.org/10.1021/es60141a005>
- Karasek, F. W., & Clement, R. E. (2012). *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry : Principles and Techniques*. Elsevier.
- Kataoka, H., Lord, H. L., & Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography A*, *880*(1), 35-62. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00309-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00309-5)
- Kim, L., Lee, D., Cho, H.-K., & Choi, S.-D. (2019). Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants : Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, *22*, e00063. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00063>
- Kong, Q., Wang, Y., & Yang, X. (2020). A Review on Hexachloro-1,3-butadiene (HCBD) : Sources, Occurrence, Toxicity and Transformation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *104*(1), 1-7. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02744-5>

- Kumar, B., Kumar, S., Gaur, R., Goel, G., Mishra, M., Singh, S. K., Prakash, D., & Sharma, C. S. (2011). Persistent organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in intensive agricultural soils from North India. *Soil and Water Research*, 6 (2011)(No. 4), 190-197. <https://doi.org/10.17221/21/2011-SWR>
- LaBrosse, J. L., & Anderegg, R. J. (1984). The mass spectrometer as a chlorine-selective chromatographic detector : I. Description and evaluation of the technique. *Journal of Chromatography A*, 314, 83-92. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)97724-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)97724-6)
- Lagarrigue, M., Lavigne, R., Tabet, E., Genet, V., Thomé, J.-P., Rondel, K., Guével, B., Multigner, L., Samson, M., & Pineau, C. (2014). Localization and in Situ Absolute Quantification of Chlordecone in the Mouse Liver by MALDI Imaging. *Analytical Chemistry*, 86(12), 5775-5783. <https://doi.org/10.1021/ac500313s>
- Lamolinará, B., Pérez-Martínez, A., Guardado-Yordi, E., Guillén Fiallos, C., Diéguez-Santana, K., & Ruiz-Mercado, G. J. (2022). Anaerobic digestate management, environmental impacts, and techno-economic challenges. *Waste Management*, 140, 14-30. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.12.035>
- Landau-Ossondo, M., Rabia, N., Jos-Pelage, J., Marquet, L. M., Isidore, Y., Saint-Aimé, C., Martin, M., Irigaray, P., & Belpomme, D. (2009). Why pesticides could be a common cause of prostate and breast cancers in the French Caribbean Island, Martinique. An overview on key mechanisms of pesticide-induced cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 63(6), 383-395. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2009.04.043>
- Langham, W. H., & Anderson, E. C. (1959). Cs137 Biospheric Contamination from Nuclear Weapons Tests. *Health Physics*, 2(1), 30.
- Lastel, M.-L., Lerch, S., Fournier, A., Jurjanz, S., Mahieu, M., Archimède, H., Feidt, C., & Rychen, G. (2016). Chlordecone disappearance in tissues of growing goats after a one month decontamination period—Effect of body fatness on chlordecone retention. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(4), 3176-3183. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5833-4>
- Lavison-Bompard, G., Parinet, J., Huby, K., Guérin, T., Inthavong, C., & Lambert, M. (2021). Correlation between endemic chlordecone concentrations in three bovine tissues determined by isotopic dilution liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Science of The Total Environment*, 788, 147833. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147833>
- Le Déaut, J.-Y., & Procaccia, C. (2009). *Les impacts de l'utilisation de la chlordécone et des pesticides aux Antilles : Bilan et perspectives d'évolution* (487). Sénat.
- Legeay, S., Billat, P.-A., Clere, N., Nesslany, F., Bristeau, S., Faure, S., & Mouvet, C. (2018). Two dechlorinated chlordecone derivatives formed by in situ chemical reduction are devoid of genotoxicity and mutagenicity and have lower proangiogenic properties compared to the parent compound. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 14313-14323. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8592-6>
- Legoff, L., D'Cruz, S. C., Lebosq, M., Gely-Pernot, A., Bouchekhchoukha, K., Monfort, C., Kernanec, P.-Y., Tevosian, S., Multigner, L., & Smagulova, F. (2021). Developmental exposure to chlordecone induces transgenerational effects in somatic prostate tissue which are associated with epigenetic histone trimethylation changes. *Environment International*, 152, 106472. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106472>
- Léon, A., Cariou, R., Hutinet, S., Hurel, J., Guitton, Y., Tixier, C., Munsch, C., Antignac, J.-P., Dervilly-Pinel, G., & Le Bizec, B. (2019). HaloSeeker 1.0 : A User-Friendly Software to Highlight Halogenated Chemicals in Nontargeted High-Resolution Mass Spectrometry Data Sets. *Analytical Chemistry*, 91(5), 3500-3507. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05103>

- Lessner, D. J. (2009). Methanogenesis Biochemistry. In eLS. John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000573.pub2>
- Levillain, J., Cattan, P., Colin, F., Voltz, M., & Cabidoche, Y.-M. (2012). Analysis of environmental and farming factors of soil contamination by a persistent organic pollutant, chlordecone, in a banana production area of French West Indies. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 159, 123-132. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.07.005>
- Leybros, J., & Frémeaux, P. (1990). Extraction solide-liquide. Techniques et appareillage. *Opérations unitaires. Génie de la réaction chimique*. <https://doi.org/10.51257/a-v1-j2782>
- Leyva-Morales, J. B., Valdez-Torres, J. B., Bastidas-Bastidas, P. J., & Betancourt-Lozano, M. (2015). Validation and Application of a Multi-residue Method, Using Accelerated Solvent Extraction Followed by Gas Chromatography, for Pesticides Quantification in Soil. *Journal of Chromatographic Science*, 53(10), 1623-1630. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv063>
- Lian, S., Nikolausz, M., Nijenhuis, I., da Rocha, U. N., Liu, B., Corrêa, F. B., Saraiva, J. P., & Richnow, H. H. (2020). Biotransformation of hexachlorocyclohexanes contaminated biomass for energetic utilization demonstrated in continuous anaerobic digestion system. *Journal of Hazardous Materials*, 384, 121448. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121448>
- Lian, S., Nikolausz, M., Nijenhuis, I., Francisco Leite, A., & Richnow, H. H. (2018). Biotransformation and inhibition effects of hexachlorocyclohexanes during biogas production from contaminated biomass characterized by isotope fractionation concepts. *Bioresource Technology*, 250, 683-690. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.11.076>
- Liu, W., Gan, J. J., Lee, S., & Kabashima, J. N. (2004). Phase distribution of synthetic pyrethroids in runoff and stream water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(1), 7-11. <https://doi.org/10.1897/03-183>
- Lo, H. M., Kurniawan, T. A., Sillanpää, M. E. T., Pai, T. Y., Chiang, C. F., Chao, K. P., Liu, M. H., Chuang, S. H., Banks, C. J., Wang, S. C., Lin, K. C., Lin, C. Y., Liu, W. F., Cheng, P. H., Chen, C. K., Chiu, H. Y., & Wu, H. Y. (2010). Modeling biogas production from organic fraction of MSW co-digested with MSWI ashes in anaerobic bioreactors. *Bioresource Technology*, 101(16), 6329-6335. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.048>
- Löffler, F. E., Yan, J., Ritalahti, K. M., Adrian, L., Edwards, E. A., Konstantinidis, K. T., Müller, J. A., Fullerton, H., Zinder, S. H., & Spormann, A. M. (2013). Dehalococcoides mccartyi gen. Nov., sp. Nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halogen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, Dehalococcoidia classis nov., order Dehalococcoidales ord. Nov. And family Dehalococcoidaceae fam. Nov., within the phylum Chloroflexi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt_2), 625-635. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.034926-0>
- Lomheim, L., Flick, R., Rambinaising, S., Gaspard, S., & Edwards, E. A. (2021a). Identification of a Fully Dechlorinated Product of Chlordecone in Soil Microcosms and Enrichment Cultures. *Environmental Science & Technology Letters*, 8(8), 662-667. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.1c00505>
- Lomheim, L., Laquitaine, L., Rambinaising, S., Flick, R., Starostine, A., Jean-Marius, C., Edwards, E. A., & Gaspard, S. (2020). Evidence for extensive anaerobic dechlorination and transformation of the pesticide chlordecone (C10Cl10O) by indigenous microbes in microcosms from Guadeloupe soil. *PLOS ONE*, 15(4), e0231219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231219>
- Lopez-Avila, V., Dodhiwala, N. S., & Beckert, W. F. (1990). Supercritical Fluid Extraction and Its Application to Environmental Analysis. *Journal of Chromatographic Science*, 28(9), 468-476. <https://doi.org/10.1093/chromsci/28.9.468>

- López-Bascón, M. A., & Luque de Castro, M. D. (2020). Chapter 11—Soxhlet Extraction. In C. F. Poole (Éd.), *Liquid-Phase Extraction* (p. 327-354). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00011-6>
- Lovelock, J. E. (1958). A sensitive detector for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1, 35-46. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)93398-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)93398-3)
- Lu, H., & Liu, W. (2016). Distribution characteristics of organochlorine pesticides in soil, water, and sediment from the Bahe River, China. *Environmental Forensics*, 17(1), 80-86. <https://doi.org/10.1080/15275922.2015.1133731>
- Luellen, D. R., Vadas, G. G., & Unger, M. A. (2006). Kepone in James River fish : 1976–2002. *Science of The Total Environment*, 358(1), 286-297. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.08.046>
- Lunsford, C. A., Walton, C. L., & Shell, J. W. (1980). *Summary of Kepone Study Results, 1976-1978* (State Water Control Board). <https://books.google.fr/books?id=4ZYuzwEACAAJ>
- Luque de Castro, M. D., & García Ayuso, L. E. (2000). ENVIRONMENTAL APPLICATIONS | Soxhlet Extraction. In I. D. Wilson (Éd.), *Encyclopedia of Separation Science* (p. 2701-2709). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226770-2/06681-3>
- Magdic, S., & Pawliszyn, J. B. (1996). Analysis of organochlorine pesticides using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 723(1), 111-122. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00857-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00857-8)
- Maier-Bode, H. (1976). The insecticide “Kelevan”. In F. A. Gunther & J. D. Gunther (Éds.), *Residue Reviews* (p. 45-76). Springer US.
- Martin, A. J. P., & Synge, R. L. M. (1941). A new form of chromatogram employing two liquid phases : A theory of chromatography. 2. Application to the micro-determination of the higher monoaminoacids in proteins. *Biochemical Journal*, 35(12), 1358-1368. <https://doi.org/10.1042%2Fbj0351358>
- Martin, D. E., Alhajjar, P., Muselet, D., Soligot-Hognon, C., Kanso, H., Pacaud, S., Le Roux, Y., Saaidi, P.-L., & Feidt, C. (2023). Efficient biodegradation of the recalcitrant organochlorine pesticide chlordecone under methanogenic conditions. *Science of The Total Environment*, 903, 166345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166345>
- Martin, D., Lobo, F., Lavison-Bompard, G., Guérin, T., & Parinet, J. (2020). Effect of home cooking processes on chlordecone content in beef and investigation of its by-products and metabolites by HPLC-HRMS/MS. *Environment International*, 144, 106077. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106077>
- Martín, M. A., Fernández, R., Gutiérrez, M. C., & Siles, J. A. (2018). Thermophilic anaerobic digestion of pre-treated orange peel : Modelling of methane production. *Process Safety and Environmental Protection*, 117, 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2018.05.008>
- Martin-Laurent, F., Sahnoun, M. M., Merlin, C., Vollmer, G., & Lübke, M. (2014). Detection and quantification of chlordecone in contaminated soils from the French West Indies by GC-MS using the ¹³C¹⁰-chlordecone stable isotope as a tracer. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(7), 4928-4933. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1839-y>
- Martins, J. G., Amaya Chávez, A., Waliszewski, S. M., Colín Cruz, A., & García Fabila, M. M. (2013). Extraction and clean-up methods for organochlorine pesticides determination in milk. *Chemosphere*, 92(3), 233-246. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.008>
- Maudouit, M., & Rochoy, M. (2019). Systematic review of the impact of chlordecone on human health in the French West Indies. *Thérapie*, 74(6), 611-625. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2019.01.010>

- McLafferty, F. W. (1981). Tandem Mass Spectrometry. *Science*, 214(4518), 280-287. <https://doi.org/10.1126/science.7280693>
- McNair, H. M., Miller, J. M., & Snow, N. H. (2019). *Basic Gas Chromatography*. John Wiley & Sons.
- Mehendale, H. M., Fishbein, L., Fields, M., & Matthews, H. B. (1972). Fate of mirex-14C in the rat and plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 8(4), 200-207. <https://doi.org/10.1007/BF01839512>
- Meijs, A. W., & Ernst, G. F. (1979). Rapid gas chromatographic method for the determination of kepone in the eel. *Journal of Chromatography*, 171(8), 486-489.
- Méndez-Fernandez, P., Kiszka, J. J., Heithaus, M. R., Beal, A., Vandersarren, G., Caurant, F., Spitz, J., Taniguchi, S., & Montone, R. C. (2018). From banana fields to the deep blue : Assessment of chlordecone contamination of oceanic cetaceans in the eastern Caribbean. *Marine Pollution Bulletin*, 137, 56-60. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.10.012>
- Menet, M.-C. (2011). Principes de la spectrométrie de masse. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2011(437), 41-53. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(11\)71211-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(11)71211-4)
- Merdassa, Y., Liu, J.-F., Megersa, N., & Tessema, M. (2015). An efficient and fast microwave-assisted extraction method developed for the simultaneous determination of 18 organochlorine pesticides in sediment. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 95(3), 225-239. <https://doi.org/10.1080/03067319.2014.1002493>
- Merib, J., Simão, V., Dias, A. N., & Carasek, E. (2013). Simultaneous determination of trihalomethanes and organochlorine pesticides in water samples by direct immersion-headspace-solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1321, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.080>
- Merlin, C., Devers, M., Crouzet, O., Heraud, C., Steinberg, C., Mougin, C., & Martin-Laurent, F. (2014). Characterization of chlordecone-tolerant fungal populations isolated from long-term polluted tropical volcanic soil in the French West Indies. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21(7), 4914-4927. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1971-8>
- Mesquita, T. C. R., Santos, R. R., Cacique, A. P., De Sá, L. J., Silvério, F. O., & Pinho, G. P. (2018). Easy and fast extraction methods to determine organochlorine pesticides in sewage sludge, soil, and water samples based at low temperature. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 53(3), 199-206. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1405626>
- Mills, P. A. (1959). Detection and Semiquantitative Estimation of Chlorinated Organic Pesticide Residues in Foods by Paper Chromatography. *Journal of Association of Official Agricultural Chemists*, 42(4), 734-740. <https://doi.org/10.1093/jaoac/42.4.734>
- Miossec, C., Lancelleur, L., & Monperrus, M. (2018). Adaptation and validation of QuEChERS method for the simultaneous analysis of priority and emerging pollutants in sediments by gas chromatography—Mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 98(8), 695-708. <https://doi.org/10.1080/03067319.2018.1496245>
- Miyawaki, T., Tobiishi, K., Takenaka, S., & Kadokami, K. (2018). A Rapid Method, Combining Microwave-Assisted Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry with a Database, for Determining Organochlorine Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils and Sediments. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 27(1), 31-45. <https://doi.org/10.1080/15320383.2017.1360245>
- Moletta, R. (1993). Anaerobic processing : From the smallest to the largest [biochemical bases of methanisation, applications]. *Biofutur (France)*.

- Molins, C., Hogendoorn, E. A., Heusinkveld, H. A. G., Zoonen, P. V., & Baumann, R. A. (1997). Microwave Assisted Solvent Extraction (Mase) of Organochlorine Pesticides from Soil Samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 68(2), 155-169. <https://doi.org/10.1080/03067319708030488>
- Moncure, R., & Nichols, M. (1968). Characteristics of Sediments in the James River Estuary, Virginia. *Reports*. <https://doi.org/10.21220/V56F0Q>
- Monégier, B. (1997). *Electrospray*. Ed. Techniques Ingénieur.
- Moreno, D. V., Ferrera, Z. S., Santana Rodríguez, J. J., Aixalà, E. P., & Ballarín, F. B. (2007). Determination of Organochlorine Pesticides from Agricultural Soils Using Pressurized Liquid Extraction. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 17(1), 1-11. <https://doi.org/10.1080/15320380701741263>
- Moseman, R. F., Crist, H. L., Edgerton, T. R., & Ward, M. K. (1977). Electron capture gas chromatographic determination of Kepone® residues in environmental samples. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 6(1), 221-231. <https://doi.org/10.1007/BF02097763>
- Mottes, C., Deffontaines, L., Charlier, J. B., Comte, I., Della Rossa, P., Lesueur-Jannoyer, M., Woignier, T., Adele, G., Tailame, A.-L., Arnaud, L., Plet, J., Rangon, L., Bricquet, J.-P., & Cattani, P. (2020). Spatio-temporal variability of water pollution by chlordécone at the watershed scale : What insights for the management of polluted territories? *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 40999-41013. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06247-y>
- Mottes, C., Lesueur Jannoyer, M., Le Bail, M., Guéné, M., Carles, C., & Malézieux, E. (2017). Relationships between past and present pesticide applications and pollution at a watershed outlet : The case of a horticultural catchment in Martinique, French West Indies. *Chemosphere*, 184, 762-773. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.06.061>
- Mouvet, C., Collet, B., Gaude, J.-M., Rangon, L., Bristeau, S., Senergues, M., Lesueur-Jannoyer, M., Jestin, A., Hellal, J., & Woignier, T. (2020). Physico-chemical and agronomic results of soil remediation by In Situ Chemical Reduction applied to a chlordécone-contaminated nitisol at plot scale in a French Caribbean banana plantation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 41063-41092. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07603-z>
- Mouvet, C., Crouzet, C., Bristeau, S., Decouchon, E., & Breeze, D. (2016). *Sorption et désorption de la chlordécone et de deux de ses produits de dégradation formés par déchloration réductive. Rapport final*. BRGM/RP-65357-FR, 34p., 6 fig., 10 tabl. [http://infoterre.brgm.fr/rapports ...](http://infoterre.brgm.fr/rapports...)
- Mouvet, C., Dictor, M.-C., Bristeau, S., Breeze, D., & Mercier, A. (2017). Remediation by chemical reduction in laboratory mesocosms of three chlordécone-contaminated tropical soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(33), 25500-25512. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7582-4>
- Multigner, L., Kadhel, P., Rouget, F., Blanchet, P., & Cordier, S. (2016). Chlordécone exposure and adverse effects in French West Indies populations. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(1), 3-8. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4621-5>
- Multigner, L., Ndong, J. R., Giusti, A., Romana, M., Delacroix-Maillard, H., Cordier, S., Jégou, B., Thome, J. P., & Blanchet, P. (2010). Chlordécone exposure and risk of prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 28(21), 3457-3462. <https://doi.org/10.1200/jco.2009.27.2153>
- Multigner, L., Rouget, F., Costet, N., Monfort, C., Blanchet, P., Kadhel, P., Bataille, H., & Cordier, S. (2018). Chlordécone : Un perturbateur endocrinien emblématique affectant les Antilles Françaises. *Bull Epidemiol. Hebd*, 22-23.

- Munson, M. S. B., & Field, F. H. (1966). Chemical Ionization Mass Spectrometry. I. General Introduction. *Journal of the American Chemical Society*, 88(12), 2621-2630. <https://doi.org/10.1021/ja00964a001>
- Musarurwa, H., Chimuka, L., Pakade, V. E., & Tavengwa, N. T. (2019). Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 84, 103314. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103314>
- Natangelo, M., Tavazzi, S., Fanelli, R., & Benfenati, E. (1999). Analysis of some pesticides in water samples using solid-phase microextraction–gas chromatography with different mass spectrometric techniques. *Journal of Chromatography A*, 859(2), 193-201. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00850-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00850-X)
- Nauen, R. (2007). Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Management Science*, 63(7), 628-633. <https://doi.org/10.1002/ps.1406>
- Navarro, P., Cortazar, E., Bartolomé, L., Deusto, M., Raposo, J. C., Zuloaga, O., Arana, G., & Etxebarria, N. (2006). Comparison of solid phase extraction, saponification and gel permeation chromatography for the clean-up of microwave-assisted biological extracts in the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A*, 1128(1), 10-16. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.06.063>
- Nichols, M., & Cutshall, N. (1981). Tracing Kepone contamination in James estuary sediments. *Rapports Proces-Verbaux Reunions Conseil International Exploration Mer*, 174, 102-110.
- Nichols, M. M. (1990). Sedimentologic fate and cycling of Kepone in an estuarine system : Example from the James river estuary. *Science of The Total Environment*, 97-98, 407-440. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(90\)90254-R](https://doi.org/10.1016/0048-9697(90)90254-R)
- Ollivier, P., Engevin, J., Bristeau, S., & Mouvet, C. (2020). Laboratory study on the mobility of chlordecone and seven of its transformation products formed by chemical reduction in nitisol lysimeters of a banana plantation in Martinique (French Caribbean). *Science of The Total Environment*, 743, 140757. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140757>
- Ollivier, P., Touzelet, S., Bristeau, S., & Mouvet, C. (2020). Transport of chlordecone and two of its derivatives through a saturated nitisol column (Martinique, France). *Science of The Total Environment*, 704, 135348. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135348>
- Orndorff, S., & Colwell, R. (1980). Microbial transformation of kepone. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(2), 398-406. <https://doi.org/10.1128/aem.39.2.398-406.1980>
- Oulhote, Y., Rouget, F., Michineau, L., Monfort, C., Desrochers-Couture, M., Thomé, J.-P., Kadhel, P., Multigner, L., Cordier, S., & Muckle, G. (2023). Prenatal and childhood chlordecone exposure, cognitive abilities and problem behaviors in 7-year-old children : The TIMOUN mother–child cohort in Guadeloupe. *Environmental Health*, 22(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12940-023-00970-3>
- Pandit, G. G., Sahu, S. K., Sharma, S., & Puranik, V. D. (2006). Distribution and fate of persistent organochlorine pesticides in coastal marine environment of Mumbai. *Environment International*, 32(2), 240-243. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.08.018>
- Patureau, D., & Trably, E. (2006). Impact of Anaerobic and Aerobic Processes on PolyChloroBiphenyl Removal in Contaminated Sewage Sludge. *Biodegradation*, 17(1), 9-17. <https://doi.org/10.1007/s10532-005-1920-4>
- Pellizzari, E. D. (1974). Electron capture detection in gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 98(2), 323-361. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)92077-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)92077-6)

- Perestrelo, R., Silva, P., Porto-Figueira, P., Pereira, J. A. M., Silva, C., Medina, S., & Câmara, J. S. (2019). QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. *Analytica Chimica Acta*, 1070, 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>
- Perrut, M. (1999). *Extraction par fluide supercritique*. Techniques de l'Ingénieur. <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/operations-unitaires-extractions-fluide-fluide-et-fluide-solide-42332210/extraction-par-fluide-supercritique-j2770/>
- Petty, J. D., Huckins, J. N., & Alvarez, D. A. (2002). *Device for sequestration and concentration of polar organic chemicals from water* (United States Brevet US6478961B2). <https://patents.google.com/patent/US6478961B2/en>
- Picó, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84-99. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005>
- Pionke, H. B., & Chesters, G. (1968). Determination of Organochlorine Insecticides in Soils and Waters. *Soil Science Society of America Journal*, 32(6), 749-759. <https://doi.org/10.2136/sssaj1968.03615995003200060019x>
- Ponchant, L., Samouelian, A., Andrieux, P., Campan, P., & Voltz, M. (2020). *Bilan et analyse des risques de transferts de pesticides selon une gamme de situation agropédoclimatiques en contexte tropical antillais, Guadeloupe. Rapport final projet « Transfert des Pesticides par voies dissoutes et Particulaires aux Antilles—TPDP »*. convention INRA - ONEMA.
- Poole, C. F. (2002). Chapter 12 Principles and practice of solid-phase extraction. In *Comprehensive Analytical Chemistry* (Vol. 37, p. 341-387). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0166-526X\(02\)80049-6](https://doi.org/10.1016/S0166-526X(02)80049-6)
- Prins, H. J. (1946). Syntheses of polychloro compounds with aluminium chloride. VI : The elimination of hydrogen chloride from polychloro compounds and the formation of cyclic compounds. The synthesis of perchlorocyclopentadiene. *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas*, 65(6), 455-467. <https://doi.org/10.1002/recl.19460650607>
- PubChem. (s. d.). *Chlordecone*. Consulté 20 juillet 2023, à l'adresse <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/299>
- Ragsdale, S. W. (2009). Nickel-based Enzyme Systems. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(28), 18571-18575. <https://doi.org/10.1074/jbc.R900020200>
- Ranguin, R., Delannoy, M., Yacou, C., Jean-Marius, C., Feidt, C., Rycken, G., & Gaspard, S. (2021). Biochar and activated carbons preparation from invasive algae *Sargassum* spp. For Chlordecone availability reduction in contaminated soils. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105280. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105280>
- Ranguin, R., Durimel, A., Karioua, R., & Gaspard, S. (2017). Study of chlordecone desorption from activated carbons and subsequent dechlorination by reduced cobalamin. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(33), 25488-25499. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9542-z>
- Rashid, A., Nawaz, S., Barker, H., Ahmad, I., & Ashraf, M. (2010). Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217(17), 2933-2939. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.060>
- Renner, G., & Reuschenbach, M. (2023). Critical review on data processing algorithms in non-target screening : Challenges and opportunities to improve result comparability. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415(18), 4111-4123. <https://doi.org/10.1007/s00216-023-04776-7>

- Resiere, D., Mehdaoui, H., Banydeen, R., Florentin, J., Kallel, H., Nevère, R., & Mégarbane, B. (2021). Effets sanitaires de la décomposition des algues sargasses échouées sur les rivages des Antilles françaises. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 33(3), 216-221. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2021.05.003>
- Revised Drinking Water Directive 2020/2184/EC, 16 Décembre 2020. Official Journal (OJ L 435/1) of the European Parliament and of the Council., 62p (2020).
- Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N., & Pohl, C. (1996). Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. *Analytical Chemistry*, 68(6), 1033-1039. <https://doi.org/10.1021/ac9508199>
- Rickes, E. L., Brink, N. G., Koniuszy, F. R., Wood, T. R., & Folkers, K. (1948). Vitamin B12, a cobalt complex. *Science*, 108(2797), 134-134. <https://doi.org/10.1126/science.108.2797.134.a>
- Rimkus, G. G., Rummler, M., & Nausch, I. (1996). Gel permeation chromatography-high performance liquid chromatography combination as an automated clean-up technique for the multiresidue analysis of fats. *Journal of Chromatography A*, 737(1), 9-14. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(96\)00020-9](https://doi.org/10.1016/0021-9673(96)00020-9)
- Rochette, R., Andrieux, P., Bonnal, V., & Cattan, P. (2017). *Contamination des bassins versants de la Guadeloupe continentale par la chlordécone. Actualisation des connaissances et cartographie des zones à risque de contamination*. INRA-CIRAD. <https://agritrop.cirad.fr/586773/>
- Rochette, R., Bonnal, V., Andrieux, P., & Cattan, P. (2020). Analysis of surface water reveals land pesticide contamination: An application for the determination of chlordane-polluted areas in Guadeloupe, French West Indies. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 41132-41142. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10718-y>
- Rondeau, D. (2017). Spectrométrie de masse organique-Principe, méthodes d'introduction et d'ionisation. *Techniques de l'Ingenieur*, p-2645.
- Rostagno, M. A., & Prado, J. M. (2013). *Natural Product Extraction: Principles and Applications*. Royal Society of Chemistry.
- Rouvière, F., Buleté, A., Cren-Olivé, C., & Arnaudguilhem, C. (2012). Multiresidue analysis of aromatic organochlorines in soil by gas chromatography-mass spectrometry and QuEChERS extraction based on water/dichloromethane partitioning. Comparison with accelerated solvent extraction. *Talanta*, 93, 336-344. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.02.048>
- Rutkowska, M., Namieśnik, J., & Konieczka, P. (2017). Chapter 10—Ultrasound-Assisted Extraction. In F. Pena-Pereira & M. Tobiszewski (Éds.), *The Application of Green Solvents in Separation Processes* (p. 301-324). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805297-6.00010-3>
- Saaidi, P.-L., Grünberger, O., Samouëlian, A., Le Roux, Y., Richard, A., Devault, D. A., Feidt, C., Benoit, P., Evrard, O., Imfeld, G., Mouvet, C., & Voltz, M. (2023). Is a dissipation half-life of 5 years for chlordane in soils of the French West Indies relevant? *Environmental Pollution*, 324, 121283. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121283>
- Sabatier, P., Mottes, C., Cottin, N., Evrard, O., Comte, I., Piot, C., Gay, B., Arnaud, F., Lefevre, I., Develle, A.-L., Deffontaines, L., Plet, J., Lesueur-Jannoyer, M., & Poulenard, J. (2021). Evidence of Chlordane Resurrection by Glyphosate in French West Indies. *Environmental Science & Technology*, 55(4), 2296-2306. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05207>
- Saha, J. G. (1971). Comparison of Several Methods for Extracting Chlordane Residues from Soil. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 54(1), 170-174. <https://doi.org/10.1093/jaoac/54.1.170>

- Saim, N., Dean, J. R., Abdullah, Md. P., & Zakaria, Z. (1997). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil using Soxhlet extraction, pressurised and atmospheric microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. *Journal of Chromatography A*, 791(1), 361-366. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00768-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00768-1)
- Saint-Amour, D., Muckle, G., Gagnon-Chauvin, A., Rouget, F., Monfort, C., Michineau, L., Thomé, J.-P., Kadhel, P., Multigner, L., & Cordier, S. (2020). Visual contrast sensitivity in school-age Guadeloupean children exposed to chlordecone. *NeuroToxicology*, 78, 195-201. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.02.012>
- Saint-Hilaire, M., Bertin, T., Inthavong, C., Lavison-Bompard, G., Guérin, T., Fournier, A., Feidt, C., Rychen, G., & Parinet, J. (2018). Validation of analytical methods for chlordecone and its metabolites in the urine and feces of ewes. *Journal of Chromatography B*, 1093-1094, 66-76. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.058>
- Saint-Hilaire, M., Fourcot, A., Bousquet-Mélou, A., Rychen, G., Thomé, J.-P., Parinet, J., Feidt, C., & Fournier, A. (2021). Characterization and quantification of chlordecone elimination in ewes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 87, 103698. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103698>
- Saint-Hilaire, M., Inthavong, C., Bertin, T., Lavison-Bompard, G., Guérin, T., Fournier, A., Feidt, C., Rychen, G., & Parinet, J. (2018). Development and validation of an HPLC-MS/MS method with QuEChERS extraction using isotopic dilution to simultaneously analyze chlordecone and chlordecol in animal livers. *Food Chemistry*, 252, 147-153. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.092>
- Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Thomé, J.-P., Joaquim-Justo, C., Le Roux, Y., Feidt, C., & Fournier, A. (2020). Linear toxicokinetic of chlordecone in ewe's serum. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(33), 40963-40970. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05800-z>
- Sakakibara, F., Takagi, K., Kataoka, R., Kiyota, H., Sato, Y., & Okada, S. (2011). Isolation and identification of dieldrin-degrading *Pseudonocardia* sp. Strain KSF27 using a soil-charcoal perfusion method with aldrin trans-diol as a structural analog of dieldrin. *Biochemical and biophysical research communications*, 411(1), 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.096>
- Saleh, F. Y., & Lee, G. F. (1978). Analytical methodology for kepone in water and sediment. *Environmental Science & Technology*, 12(3), 297-301. <https://doi.org/10.1021/es60139a013>
- Salim, F., & Górecki, T. (2019). Theory and modelling approaches to passive sampling. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 21(10), 1618-1641. <https://doi.org/10.1039/C9EM00215D>
- Sandre, F., Dromard, C., Menach, K. L., Bouchon-Navaro, Y., Cordonnier, S., Tapie, N., Budzinski, H., & Bouchon, C. (2019). Detection of Adsorbed Chlordecone on Microplastics in Marine Sediments in Guadeloupe : A Preliminary Study. *Gulf and Caribbean Research*, 30(1), GCFI 8-GCFI 14. <https://doi.org/10.18785/gcr.3001.14>
- Santana-Mayor, Á., Socas-Rodríguez, B., Herrera-Herrera, A. V., & Rodríguez-Delgado, M. Á. (2019). Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 214-235. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.018>
- Sapkale, G. N., Patil, S. M., Surwase, U. S., & Bhatbhage, P. K. (2010). Supercritical fluid extraction. *International Journal of Chemical Science*, 8(2), 729-743.
- Schlosser, P. M., Bale, A. S., Gibbons, C. F., Wilkins, A., & Cooper, G. S. (2015). Human Health Effects of Dichloromethane : Key Findings and Scientific Issues. *Environmental Health Perspectives*, 123(2), 114-119. <https://doi.org/10.1289/ehp.1308030>

- Schmidt, H., & Schultz, G. (1881). Ueber Benzidin (α -Diamidodiphenyl). *Justus Liebigs Annalen der Chemie*, 207(3), 320-347. <https://doi.org/10.1002/jlac.18812070306>
- Schrauzer, G. N., & Katz, R. N. (1978). Reductive dechlorination and degradation of mirex and kepone with vitamin B12s. *Bioinorganic chemistry*, 9(2), 123-142. [https://doi.org/10.1016/S0006-3061\(00\)80285-9](https://doi.org/10.1016/S0006-3061(00)80285-9)
- Schulz, R. K., Overstreet, R., & Barshad, I. (1960). ON THE SOIL CHEMISTRY OF CESIUM 137. *Soil Science*, 89(1), 16.
- Seech, A. G., Cairns, J. E., & Marvan, I. J. (2000). *Composition and method for dehalogenation and degradation of halogenated organic contaminants* (Brevet US Patent N°6,083,394).
- Sethunathan, N., Rao, V. R., Adhya, T. K., & Raghu, K. (1983). Microbiology of rice soils. *Critical Reviews in Microbiology*, 10(2), 125-172. <https://doi.org/10.3109/10408418209113561>
- Siebielska, I., & Sidelko, R. (2015). Polychlorinated biphenyl concentration changes in sewage sludge and organic municipal waste mixtures during composting and anaerobic digestion. *Chemosphere*, 126, 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.12.051>
- Silgoner, I., Krska, R., Lombas, E., Gans, O., Rosenberg, E., & Grasserbauer, M. (1998). Microwave assisted extraction of organochlorine pesticides from sediments and its application to contaminated sediment samples. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 362(1), 120-124. <https://doi.org/10.1007/s002160051043>
- Snegaroff, J. (1977). Les résidus d'insecticides organochlorés dans les sols et les rivières de la région bananière de Guadeloupe. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 26, 251-268.
- Soileau, S. D., & Moreland, D. E. (1983). Effects of chlordecone and its alteration products on isolated rat liver mitochondria. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 67(1), 89-99. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(83\)90247-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(83)90247-8)
- Soileau, S. D., & Moreland, D. E. (1988). Effects of chlordecone and chlordecone alcohol on isolated ovine erythrocytes. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 24(2), 237-249.
- Soine, P. J., Blanke, R. V., & Schwartz, C. C. (1983). Chlordecone metabolism in the pig. *Toxicology Letters*, 17(1), 35-41. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(83\)90032-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(83)90032-2)
- Soler, A., Lebrun, M., Labrousse, Y., & Woignier, T. (2014). Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for quantitative determination of chlordecone in water, plant and soil samples. *Fruits*, 69(4), 325-339. <https://doi.org/10.1051/fruits/2014021>
- Souza-Silva, É. A., Jiang, R., Rodríguez-Lafuente, A., Gionfriddo, E., & Pawliszyn, J. (2015). A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices I. Environmental analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 224-235. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.016>
- Soxhlet, F. (1879). *Dinglers Polytech. J*, 232, 461.
- Spietelun, A., Pilarczyk, M., Kloskowski, A., & Namieśnik, J. (2010). Current trends in solid-phase microextraction (SPME) fibre coatings. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4524-4537. <https://doi.org/10.1039/C003335A>
- Sporring, S., Bøwadt, S., Svensmark, B., & Björklund, E. (2005). Comprehensive comparison of classic Soxhlet extraction with Soxtec extraction, ultrasonication extraction, supercritical fluid extraction, microwave assisted extraction and accelerated solvent extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil. *Journal of Chromatography A*, 1090(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.008>

- Stafford, C. J., Reichel, W. L., Swineford, D. M., Prouty, R. M., & Gay, M. L. (1978). Gas-Liquid Chromatographic Determination of Kepone in Field-Collected Avian Tissues and Eggs. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 61(1), 08-14. <https://doi.org/10.1093/jaoac/61.1.8>
- Stein, V. B., & Pittman, K. A. (1977). Identification of a mirex metabolite from monkeys. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 18(4). <https://doi.org/10.1007/BF01683711>
- Sterrett, F. S., & Boss, C. A. (1977). Careless Kepone. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 19(2), 30-37. <https://doi.org/10.1080/00139157.1977.9928594>
- Stimac, R. M. (1979). Rapid Florisil Cleanup Method for Analysis of Chlorinated Pesticide Residues. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 62(1), 85-88. <https://doi.org/10.1093/jaoac/62.1.85>
- Stuart, S. L., Woods, S. L., Lemmon, T. L., & Ingle Jr., J. D. (1999). The effect of redox potential changes on reductive dechlorination of pentachlorophenol and the degradation of acetate by a mixed, methanogenic culture. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(1), 69-78. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19990405\)63:1<69::AID-BIT7>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19990405)63:1<69::AID-BIT7>3.0.CO;2-2)
- Suchan, P., Pulkrabová, J., Hajšlová, J., & Kocourek, V. (2004). Pressurized liquid extraction in determination of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in fish samples. *Analytica Chimica Acta*, 520(1), 193-200. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.02.061>
- Sutton, G. A., Napier, S. T., John, M., & Taylor, A. (1993). Uranium-238 decay chain data. *Science of The Total Environment*, 130-131, 393-401. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(93\)90094-M](https://doi.org/10.1016/0048-9697(93)90094-M)
- Sverko, E., McCarry, B., McCrindle, R., Brazeau, A., Pena-Abaurrea, M., Reiner, E., Anne Smyth, S., Gill, B., & Tomy, G. T. (2015). Evidence for Anaerobic Dechlorination of Dechlorane Plus in Sewage Sludge. *Environmental Science & Technology*, 49(23), 13862-13867. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03550>
- Tailamé, A.-L., Mexler, J., Desseix, A., Gressier, A., & Charlier, J. B. (2023). *Observatoire pour la Pollution Agricole aux Antilles : Rapport d'avancement 2022—Volet eaux souterraines. Rapport final. BRGM/RP-72644-FR. 59 p.*
- Takahashi-Iñiguez, T., García-Hernandez, E., Arreguín-Espinosa, R., & Flores, M. E. (2012). Role of vitamin B12 on methylmalonyl-CoA mutase activity. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 13(6), 423-437. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1100329>
- Tan, G. H., & Vijayaletchumy, K. (1994). Determination of organochlorine pesticide residues in river sediments by soxhlet extraction with hexane-acetone. *Pesticide Science*, 40(2), 121-126. <https://doi.org/10.1002/ps.2780400206>
- Tartakovsky, B., Hawari, J., & Guiot, S. R. (2000). Enhanced dechlorination of Aroclor 1242 in an anaerobic continuous bioreactor. *Water Research*, 34(1), 85-92. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00175-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00175-0)
- Tessier, L. (2018). *Technologies des bioprocédés industriels*. Centre collégial de développement de matériel didactique (CCDMD).
- Tian, L., Huang, D., Shi, Y., Han, F., Wang, Y., Ye, H., Tang, Y., & Yu, H. (2019). Method for the Analysis of 7 Indicator Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and 13 Organochlorine Pesticide Residues in Sediment by Gas Chromatography (GC). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 237(2), 022053. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/237/2/022053>
- Tor, A., Aydin, M. E., & Özcan, S. (2006). Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Analytica Chimica Acta*, 559(2), 173-180. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.11.078>
- Tranchant, J. (1996). Chromatographie en phase gazeuse. *Techniques d'analyse*. <https://doi.org/10.51257/a-v3-p1485>

- Trappe, W. (1940). The separation of biological fatty substances from their natural mixtures by the application of adsorption columns. *Biochem. Z.*, 306, 316.
- Trotman, R. C., & Nichols, M. N. (1978). *Kepone in bed sediments of the James River estuary. Special scientific report No. 91*. <https://doi.org/10.21220/V53B2H>
- UNEP. (2009). *C.N.524.2009.TREATIES-4*. UNEP.
- Unger, M., & Vadas, G. (2017). Kepone in the James River Estuary : Past, Current and Future Trends. *Reports*. <https://doi.org/10.21220/V5ZW35>
- Vagi, M. C., Petsas, A. S., Kostopoulou, M. N., Karamanoli, M. K., & Lekkas, T. D. (2007). Determination of organochlorine pesticides in marine sediments samples using ultrasonic solvent extraction followed by GC/ECD. *Desalination*, 210(1), 146-156. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.06.020>
- Van der Velde, E. G., De Haan, W., & Liem, A. K. D. (1992). Supercritical fluid extraction of polychlorinated biphenyls and pesticides from soil : Comparison with other extraction methods. *Journal of Chromatography A*, 626(1), 135-143. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85337-S](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85337-S)
- Van Metre, P. C., Alvarez, D. A., Mahler, B. J., Nowell, L., Sandstrom, M., & Moran, P. (2017). Complex mixtures of Pesticides in Midwest U.S. streams indicated by POCIS time-integrating samplers. *Environmental Pollution*, 220, 431-440. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.085>
- Vazquez-Roig, P., & Picó, Y. (2015). Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 55-64. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.014>
- Veenaas, C., & Haglund, P. (2017). Methodology for non-target screening of sewage sludge using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(20), 4867-4883. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0429-0>
- Vera, J., Correia-Sá, L., Paíga, P., Bragança, I., Fernandes, V. C., Domingues, V. F., & Delerue-Matos, C. (2013). QuEChERS and soil analysis. An Overview. *Sample Preparation*, 1, 54-77. <https://doi.org/10.2478/sampre-2013-0006>
- Veuthey, J.-L. (2020). Chromatographie en phase liquide Introduction. In *Techniques de l'ingénieur Techniques d'analyse: Vol. base documentaire : TIP630WEB*. (Numéro ref. article : p1454). Editions T.I. <https://doi.org/10.51257/a-v1-p1454>
- Vinaixa, M., Schymanski, E. L., Neumann, S., Navarro, M., Salek, R. M., & Yanes, O. (2016). Mass spectral databases for LC/MS- and GC/MS-based metabolomics : State of the field and future prospects. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 78, 23-35. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.09.005>
- Voltz, M., Andrieux, P., Samouëlian, A., Ponchant, L., Grünberger, O., Bajazet, T., Comte, I., Nanette, J.-B., Onapin, G., & Bussièrè, F. (2023). Flow patterns and pathways of legacy and contemporary pesticides in surface waters in tropical volcanic catchments. *Science of The Total Environment*, 893, 164815. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164815>
- Wang, H., Ding, J., & Ren, N. (2016). Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 75, 197-208. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.005>
- Wang, W., & Lee, D.-J. (2021). Valorization of anaerobic digestion digestate : A prospect review. *Biore-source Technology*, 323, 124626. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124626>

- Wang, W., Li, Z., Zhang, S., Yang, X., Zang, X., Wang, C., & Wang, Z. (2019). Triazine-based porous organic framework as adsorbent for solid-phase microextraction of some organochlorine pesticides. *Journal of Chromatography A*, 1602, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.06.001>
- Wang, W., Meng, B., Lu, X., Liu, Y., & Tao, S. (2007). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. *Analytica Chimica Acta*, 602(2), 211-222. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.09.023>
- Waters, E. M., Huff, J. E., & Gerstner, H. B. (1977). Mirex. An overview. *Environmental Research*, 14(2), 212-222. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(77\)90033-0](https://doi.org/10.1016/0013-9351(77)90033-0)
- Wells, D. E. (1988). Extraction, clean-up and group separation techniques in organochlorine trace analysis. *Pure and Applied Chemistry*, 60(9), 1437-1448. <https://doi.org/10.1351/pac198860091437>
- Wien, W. (1898). *Untersuchungen Über Die Electriche Entladung in Verdünnten Gasen*. 1Ann. Phys.
- Wilson, N. K., & Zehr, R. D. (1979). Structures of some Kepone photoproducts and related chlorinated pentacyclodecanes by carbon-13 and proton nuclear magnetic resonance. *The Journal of Organic Chemistry*, 44(8), 1278-1282.
- Wintz, L., & Pak, L. T. (2021). *Caractérisation des évolutions des concentrations en pesticides dans les eaux de surface du bassin versant du Galion en Martinique : Résultats sur quatre années de suivi*.
- Woignier, T., Clostre, F., Cattan, P., & Lesueur Jannoyer, M. (2015). *Pollution of soils and ecosystems by a permanent toxic organochlorine pesticide: Chlordecone—Numerical simulation of allophane nanoclay microstructure and calculation of its transport properties*.
- Woignier, T., Clostre, F., Macarie, H., & Jannoyer, M. (2012). Chlordecone retention in the fractal structure of volcanic clay. *Journal of Hazardous Materials*, 241, 224-230. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.09.034>
- Woignier, T., Fernandes, P., Soler, A., Clostre, F., Carles, C., Rangon, L., & Lesueur-Jannoyer, M. (2013). Soil microstructure and organic matter: Keys for chlordecone sequestration. *Journal of Hazardous Materials*, 262, 357-364. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.08.070>
- Wong, G. T. F., & Moy, C. S. (1984). Cesium-137, metals and organic carbon in the sediments of the James River estuary, Virginia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 18(1), 37-49. [https://doi.org/10.1016/0272-7714\(84\)90005-2](https://doi.org/10.1016/0272-7714(84)90005-2)
- World Health Organization. (1984). *Chlordecone*. World Health Organization.
- Zhang, W., Lin, Z., Pang, S., Bhatt, P., & Chen, S. (2020). Insights Into the Biodegradation of Lindane (γ -Hexachlorocyclohexane) Using a Microbial System. *Frontiers in Microbiology*, 11, 522. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00522>
- Zhang, Y., Yuan, Z., D. Dewald, H., & Chen, H. (2011). Coupling of liquid chromatography with mass spectrometry by desorption electrospray ionization (DESI). *Chemical Communications*, 47(14), 4171-4173. <https://doi.org/10.1039/C0CC05736C>
- Ziganshin, A. M., Liebetrau, J., Pröter, J., & Kleinstaub, S. (2013). Microbial community structure and dynamics during anaerobic digestion of various agricultural waste materials. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(11), 5161-5174. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4867-0>
- Zucker, C. L., Olsen, C. R., Larsen, I. L., & Cutshall, N. H. (1984). Inventories and sorption-desorption trends of radiocesium and radiocobalt in James River estuary sediments. *Environmental Geology and Water Sciences*, 6(3), 171-181. <https://doi.org/10.1007/BF02509911>

ANNEXES

Annexe S2. Supplementary information of « Efficient biodegradation of the recalcitrant organochlorine pesticide chlordecone under methanogenic conditions »

1. Supporting methods

Estimation of the purity of TPs from families A and B with NMR method:

The purity of A1, B1, B2, and B3/B4 was estimated through nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR), conducted on a Bruker Advance Ultra Shield 600 MHz spectrometer (UEVE, Evry, France). Each standard was diluted in 500 μL of chloroform-d (CDCl_3). 100 μL of a solution of 2 μL of acetonitrile (reference) in 500 μL of chloroform-d was then added.

Estimation of the purity of TPs from family C with NMR method:

The purity of C1/C2 and C3/C4 was estimated through nuclear magnetic resonance spectroscopy (^1H NMR) conducted on a Bruker Advance Ultra Shield 600 MHz spectrometer (UEVE, Evry, France). Each standard was diluted in 500 μL of acetone-d₆. 100 μL of a solution of 2 μL of chloroform (reference) in 500 μL of acetone-d₆ was then added.

Estimation of the purity of CLDOH and F1 with NMR method:

The purity of CLDOH and F1 was estimated through ^1H NMR analysis conducted on a Bruker Advance Ultra Shield 600 MHz spectrometer (UEVE, Evry, France). Each standard was diluted in 600 μL of dichloromethane-d₂ (CD_2Cl_2). 0.8 μL of chloroform (reference) was then added.

2. Supporting text

Evaluation of the uncertainties around the initial CLD concentration:

The purity of the CLD (Azur Isotope batch: A-7007) supplemented in the bottles was tested. For this, a solution of 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ of CLD from Azur Isotope and from Sigma (used as reference) were prepared in triplicate in hexane/acetone (85:15, v/v). A1 was added as internal standard at 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. By

comparison, a result of 97 % for CLD from Azur Isotope was obtained. Thus, the initial CLD concentration introduced into the bottles was $20 \text{ mg.L}^{-1} \cdot 97 \% = 19.4 \text{ mg.L}^{-1}$ instead of 20 mg.L^{-1} . The relative uncertainty on the CLD concentrations initially introduced into the bottles was set as follows:

Weighing of the digestate:

$$\pm 4 \text{ g over } 177 \text{ g} \rightarrow 2.26 \% \text{ relative error}$$

Volume of ethanol introduced in the CLD solution:

$$[10 \cdot (5.00 \pm 0.01 \text{ mL})] + [9 \cdot (1.000 \pm 0.001 \text{ mL})] + [3 \cdot (100 \pm 2 \text{ }\mu\text{L})] + (70 \pm 2 \text{ }\mu\text{L}) = 59.37 \pm 0.12 \text{ mL}$$

$$\rightarrow 0.2 \% \text{ relative error}$$

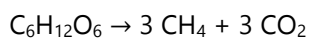
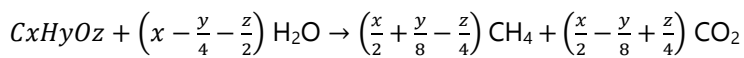
Volume of the CLD solution introduced into each bottle:

$$1.000 \pm 0.001 \text{ mL} \rightarrow 0.1 \% \text{ relative error}$$

This results in a cumulative relative error of 2.56 %. The initial CLD concentration was therefore set at $19.4 \pm 0.5 \text{ mg.L}^{-1}$.

Contribution of 1 g.L^{-1} of glucose solution to the overall biogas production:

The maximum contribution of the introduced glucose solution to the biogas production can be calculated with the following stoichiometric formula (Buswell & Hatfield, 1936):



In our experiment, 1 g.L^{-1} of glucose solution was introduced in every bottle with a total volume of 180 mL.

$$n_{\text{glucose}} = 9.99 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

$$n_{CH_4} = 3 \times 9.99 \times 10^{-4} = 3 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

The volume of CH_4 produced is then equal to $(3 \times 10^{-3} \text{ mol} \times 22.4 \text{ L}) / 1 \text{ mol} = 67.2 \text{ mL}$

$$n_{CO_2} = 3 \times 9.99 \times 10^{-4} = 3 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

The volume of CO_2 produced is then equal to $(3 \times 10^{-3} \text{ mol} \times 22.4 \text{ L}) / 1 \text{ mol} = 67.2 \text{ mL}$

The maximum volume of biogas that can be produced by the added glucose solution is therefore 134.4 mL, which corresponds to 6.3 % and 18.3 % of the total biogas volume produced under thermophilic and mesophilic conditions, respectively.

Analytical development of QuEChERS procedure

A dedicated AD experiment was set up. Incubation of CLD initially supplemented at 20 mg.L⁻¹ was performed for 40 days according to the protocol detailed in Chapter 2-4.2 in order to provide digestate samples containing both CLD and the TPs formed during the AD. The development of the QuEChERS protocol was inspired by recent works on the quantification of CLD and CLDOH in urine and feces (Saint-Hilaire, Bertin, et al., 2018). Several parameters were studied such as the nature of extraction solvent, the volume of digestate sample, pH and salt effect.

For the solvent, acetonitrile (MeCN), which is the historical solvent used in the QuEChERS procedure (Anastassiades et al., 2003) and hexane/acetone (85/15, v/v), which is commonly used for the extraction of CLD, in urine and feces (Blanke et al., 1977), and more recently in wastewater (Devault et al., 2018) were studied with the parameters corresponding to extraction 1 (Tableau S2.4). The use of MeCN as an extraction solvent shows great disparities in area between the triplicates (Tableau S2.5). Indeed, two of the three extractions performed gave rather weaker results than the third. In parallel, the areas obtained with H/A were of the same order of magnitude for the three extraction replicates. Compounds B3/B4 were detected three times with H/A while only once with MeCN. A higher reproducibility seemed thus evident with the H/A mixture. In addition, hexane and acetone have lower boiling temperatures compared to MeCN, which makes the subsequent concentration step faster. Thus, the H/A mixture (85/15, v/v) was chosen for further developments.

Then, the volume of digestate to be extracted was defined. For this purpose, triplicate extractions with a volume of 1 mL, 2 mL or 4 mL of digestate were performed with parameters for extraction 2 (Tableau S2.4). The results, which are presented in Figure S2.2, indicate that there was no significant difference between the three extraction volumes tested. However, higher matrix interferences may be present with a larger volume of digestate, which may increase the background noise and limit the detection of trace compounds. Therefore, a volume of digestate of 1 mL was chosen.

Secondly, the effect of pH on the extraction efficiency of CLD and main TPs was studied with QuEChERS protocol 3 (Tableau S2.4). Without the addition of hydrochloric acid (HCl), the pH of the aqueous phase in the presence of salts is 6.5. pH 2 (+ 800 µL of HCl 6M), pH 3 (+ 400 µL of HCl 6M) and pH 3.7 (+ 200 µL of HCl 6M) were tested. Slightly larger areas were observed for pH 2, 3 and 3.7, with no significant difference between these three pH (Figure S2.3). Slightly smaller areas were detected with pH 6.5. In addition, larger error bars were obtained for pH 2 and pH 6.5 indicating less reproducibility of extractions at these pHs. Thus, an addition of 350 µL of HCl corresponding to a pH of approximately 3.2 was chosen.

QuEChERS protocol with strong acidification assay

In order to verify that the compounds were not strongly adsorbed on the organic matter, we performed the QuEChERS protocol with the addition of a strong acidification step. According to Fariss et al. (1980), by adding an acidic hydrolysis step (1 mL of 60 % of H₂SO₄) to their protocol, CLD concentration was increased by 140 %. Our protocol was adapted as follows: internal standards were added to 0.5 mL of digestate and stirred for 1 hour at room temperature. 0.5 mL of 60 % of H₂SO₄ was added and the mixture was heated for 15 minutes at 120 °C (sand bath). The digestate was then extracted with the adapted QuEChERS protocol presented in Chapter 2-4.3.

The comparative results of the quantification in GC-MS of CLD, A1, B1 and B3/B4 following QuEChERS extraction with and without an acid step are presented in Tableau S2.19. No significant differences were obtained between the two protocols. The incomplete mass balance cannot be explained by the strong adsorption of the compounds on the organic matter. The strong acidification step was therefore not incorporated in our protocol.

Estimation of the adjustment coefficient of A1

¹³C₁₀-CLD was employed as the internal standard of A1 and CLD ($R^2=0.995$ and $R^2=0.991$ respectively for thermophilic conditions in GC-MS (Figure S2.7-A)). In GC-MS, the area ratio A1/CLD was estimated in the following cases: (i) A1 and CLD supplemented in thermophilic digestate extracted and analyzed, (ii) A1 and CLD dissolved in solvent hexane/acetone (85/15; v/v)). The observed A1/CLD ratios were similar (1.72 and 1.76, respectively) (Figure S2.7-A and -B). The difference in the response between A1 and CLD was only due to the inherent response of GC-MS towards these two compounds. In fact, the most abundant ions for A1 and CLD do not come from the same fragment (m/z 238, [C₅Cl₅H]⁺ and m/z 274, [C₅Cl₆]⁺, respectively). For mesophilic conditions, we assumed that only the inherent GC-MS response was responsible for a possible adjustment coefficient. The calibration curves in solvent (hexane/acetone, 85/15; v/v) of A1 and CLD (m/z 238 and m/z 272, respectively) were performed (Figure S2.7-C). The adjustment coefficient was set at 1.29. In LC-HRMS, the area ratio A1/CLD for thermophilic conditions was set at 1.07 (Figure S2.7-D). We considered the same adjustment coefficient for the mesophilic conditions because the same analytical method was applied for both conditions in LC-HRMS. For the other hydroCLDs, we considered that they have similar extraction and analytical performances to A1. The same adjustment coefficients were applied for the quantification of these compounds.

Choice of internal standard and adjustment coefficient of family B

Three organochlorines were studied to select the internal standard for the compounds of the family B: lindane, hexachlorobenzene (HCB) and pentachlorobenzene (PeCB) (Figure S2.8-A, S8-B and

S8-C, respectively). The best corrections were obtained for PeCB ($R^2 = 0.992$) and HCB ($R^2 = 0.984$). The single ion monitoring was carried out by monitored ions during a time range. The retention time of PeCB does not overlap with those of any CLD TP unlike HCB, which had a retention time close to B2 and B3/B4. PeCB was used as the internal standard of B1 and also applied for the quantification of B2 and B3/B4 in supplemented thermophilic digestate (Figure S2.8-D). B2 and B3/B4 have roughly the same response and a 1.28-fold higher response than B1 when dissolved in solvents (Figure S2.8-E) and supplemented in thermophilic digestate (Figure S2.8-D). Consequently, the calibration curve of B1 achieved for each analytical campaign, i.e. each incubation time, was used for the quantification of B2 and B3/B4 and the adjustment coefficient of 1.28 was applied.

Choice of internal standard and adjustment coefficient of family C

Two compounds were tested as internal standard for the TPs of family C: $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD and indane-4-carboxylic acid (Figure S2.9-A and S9-B, respectively). Both compounds provided good signal correction for C1/C2 ($R^2 = 0.981$ for $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD and $R^2 = 0.995$ for indane-4-carboxylic acid in supplemented thermophilic digestate). Indane-4-carboxylic acid is structurally closer to C1/C2 and C3/C4 than $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD and was chosen as the internal standard of these TPs ($R^2 = 0.996$ and $R^2 = 0.993$, respectively, for a concentration range of 0-4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ supplemented in thermophilic digestate (Figure S2.9-C)). C1/C2 and C3/C4 have roughly the same analytical response using carboxyindane as internal standard when supplemented in thermophilic digestate (Figure S2.9-C). We assumed that the concentrations of TPs from family C possibly formed in mesophilic digestate could be estimated using the calibration curve used for thermophilic digestate. The available quantities of C1/C2 and C3/C4 were not sufficient to perform calibration curves for each analytical campaign, i.e. at each incubation time under thermophilic and mesophilic conditions. The quantification was done by using the only calibration curve of C1/C2 and C3/C4 established with matrix for thermophilic conditions (Figure S2.9-C). Indane-4-carboxylic acid was supplemented in each sample before extraction at a final concentration of 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. To compare, the calibration curve of CLD/ $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD, which was carried out at each time, was also used to quantify C1/C2 and C3/C4 with indane-4-carboxylic acid with the application of an adjustment coefficient set at 0.64 and 0.66 for C1/C2 and C3/C4, respectively. No significant difference was obtained between these two methods.

Estimation of the adjustment coefficient of CLDOH

$^{13}\text{C}_{10}$ -CLD was employed as the internal standard of CLDOH ($R^2=0.995$ dissolved in solvent and analyzed in GC-MS (Figure S2.10-A)). In GC-MS, the area ratio CLDOH/CLD supplemented in thermophilic digestate and extracted vs. dissolved in solvent hexane/acetone (85/15)) were estimated at 2.77

and 2.06, respectively (Figure S2.10-E and S10-A). This difference was the result of the GC-MS response (using m/z 274 for CLD) (Figure S2.10-A), matrix effects and extraction efficiencies (Tableau S2.6) of CLDOH and CLD as show in equation below:

$$\frac{\text{CLDOH area}}{\text{CLD area}} \text{ in thermophilic digestate} = \frac{\text{CLDOH area}}{\text{CLD area}} \text{ in solvent} * \frac{\text{CLDOH efficiency}}{\text{CLD efficiency}} * \text{matrix effects}$$

For mesophilic conditions, the inherent GC-MS response (using m/z 272 for CLD) (Figure S2.10-B) and respective extraction efficiency (Tableau S2.6) and matrix effects of CLDOH and CLD in this digestate were evaluated. Matrix effects and recoveries of CLD and CLDOH in mesophilic and thermophilic digestate were similar. The coefficient of adjustment for mesophilic conditions was set at 1.75, which is 1.22 times higher than the coefficient obtained in solvent (using m/z 272 for CLD). This difference was found to be similar between the coefficients obtained in solvent and in thermophilic digestate (1.34), confirming the estimation of the correction factor in mesophilic condition.

Estimation of the adjustment coefficient of F1

$^{13}\text{C}_{10}$ -CLD was employed as the internal standard of F1 ($R^2=0.887$) for thermophilic conditions in GC-MS (Figure S2.10-E). In GC-MS, the area ratio for F1 and CLD supplemented in thermophilic digestate and dissolved in solvents were estimated at 0.25 and 0.50, respectively (Figure S2.10-C and S10-E). This difference was due to the inherent signal in GC-MS between F1 and CLD and respective extraction efficiencies for F1 and CLD (Tableau S2.6). The adjustment coefficient was set at 0.25. For mesophilic conditions, this coefficient of adjustment was estimated with inherent signal between these two compounds (Figure S2.10-D) and their respective efficiency in mesophilic digestate (Tableau S2.6). This coefficient was calculated from the ratio obtained in solvent (0.41) and taking into account the extraction yields of CLD and F1 and set at 0.15.

Half-life estimations:

Under thermophilic conditions, the evolution of CLD concentrations over time was modeled using an apparent First-Order kinetic (Figure S2.14).

The rate constant is 0.0458 d^{-1} .

The calculated half-life of CLD under thermophilic: $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \mathbf{15.13 \text{ days}}$.

The integrated rate law equation can be expressed in exponential form:

$$[\text{CLD}]_t = [\text{CLD}]_0 e^{-kt}$$

Under mesophilic conditions, the evolution of CLD concentrations could be modelled using both Zero- and First-Order kinetics (Figure S2.15-Figure S2.16).

For the Zero-Order kinetics: The rate constant is $0.0004 \mu\text{M}\cdot\text{d}^{-1}$.

The calculated half-life of CLD under mesophilic: $t_{1/2} = \frac{[CLD]t_0}{2k} = \mathbf{46.45 \text{ days}}$.

The integrated rate law equation is the following: $[CLD]_f = -kt + [CLD]_0$

For the First-Order kinetics: The rate constant is 0.0126 d^{-1} .

The calculated half-life of CLD under mesophilic: $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \mathbf{55.01 \text{ days}}$.

The integrated rate law equation is the following: $\ln[CLD]_f = -kt + \ln[CLD]_0$

Biogas modeling:

The cumulative biogas production ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$) was evaluated using various non-linear models, commonly used to simulate biogas accumulation (Ghatak & Mahanta, 2014; Lo et al., 2010; Martín et al., 2018), in order to choose the best fit for our data under mesophilic and thermophilic conditions. The modeling of biogas in the bottles spiked with CLD and in the negative controls gave the same results; for this reason, only the graphs of biogas modeling from the CLD-spiked bottles will be presented herein.

For the mesophilic conditions:

Due to the apparent lag phase in biogas production under mesophilic conditions, the accumulation of biogas at $37.5 \text{ }^\circ\text{C}$, was first simulated using the logistic growth equation (Eq.1, Figure S2.17-A) and the Gompertz equation (Eq.2, Figure S2.17-B):

The logistic growth equation:

$$y = A / [1 + (b * \exp (-kt))] \quad (\text{Eq.1})$$

where y represents the cumulative biogas production ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$) at time t , A is the maximum biogas production ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$), k is the kinetic rate constant (d^{-1}), t is the incubation time in days, and b is the model constant.

The Gompertz equation:

$$y = A * \exp (-b \exp(-kt)) \quad (\text{Eq.2})$$

where y represents the cumulative biogas production ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$) at time t , A is the maximum biogas production ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$), k is the kinetic rate constant (d^{-1}), t is the incubation time in days, and b is the model constant.

In addition, the cumulative biogas production under mesophilic conditions was also simulated with the exponential rise to maximum equation (Eq. 3, Figure S2.17-C), for comparison purposes.

The exponential rise to maximum equation:

$$y = A (1 - \exp(-kt)) \quad (\text{Eq. 3})$$

where y represents the biogas accumulation ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$) at time t (day), A refers to the maximum biogas production ($\text{mL.g}^{-1} \text{ VS}$), while k is the first order kinetic constant (d^{-1}) and t is the incubation time in days.

For the thermophilic conditions:

Given the initial strong biogas production under thermophilic conditions, the biogas accumulation was first simulated using exponential rise to maximum equation (Eq. 3, Figure S2.18-A). In addition, cumulative biogas production under thermophilic conditions was also simulated with the Gompertz equation (Eq.2, Figure S2.18-B) and the logistic growth equation (Eq.1, Figure S2.18-C), for comparison purposes. As shown in Figure S2.17 and in Tableau S2.9, the Gompertz and the logistic growth models showed better fit for the mesophilic data than the exponential model. Gompertz model exhibited higher R^2 values than the logistic growth model, and hence was considered the best fit for the mesophilic biogas data. Under thermophilic conditions, the exponential model showed better fit for the biogas data than the logistic growth and Gompertz models (Figure S2.18) as well as higher R^2 values (Tableau S2.9).

Is there an association between the biogas evolution and that of CLD?

The correlation test, used to evaluate the association between two or more variables, was used to examine if the evolution of CLD is correlated with the biogas production.

Under Thermophilic conditions:

The different values for CLD concentrations used in this test (other than T0, T5, T20, and T40) were calculated from the 1st order kinetic equation for CLD degradation under thermophilic conditions (Figure S2.19).

The Shapiro-Wilk Test was used to test the normality of the data:

Shapiro-Wilk normality test for biogas => $p = 0.5863$; Shapiro-Wilk normality test for CLD => $p = 0.5679$
Since both p -values are higher than 0.05, we can assume that both data follow the normal distribution.

Pearson correlation test was then applied:

→ The p -value of the test is 0.0031 (< 0.05) and the correlation coefficient (R) = -0.89

→ We can thus conclude that CLD and biogas are significantly correlated with a correlation coefficient of -0.89 and a p -value of 0.0031.

The negative correlation coefficient indicates a strong negative correlation between [CLD] and biogas production, which means that the higher the biogas production, the higher the CLD removal.

Under Mesophilic conditions:

The different values for CLD concentrations used in this test (other than T0, T5, T20, and T40) were calculated from the 1st order kinetic equation for CLD degradation under mesophilic conditions (Figure S2.20). [Correlation test performed with CLD values calculated from the zero-order kinetic equation gave the same results (data not shown)].

The Shapiro-Wilk Test was used to the test the normality of the data:

Shapiro-Wilk normality test for biogas => $p = 0.084$; Shapiro-Wilk normality test for CLD => $p = 0.158$
since both p-values are higher than 0.05, we can assume that both data follow the normal distribution.

Pearson correlation test was then applied:

→ The p-value of the test is 0.012 (<0.05) and the correlation coefficient (R) = -0.82

→ We can thus conclude that CLD and biogas are significantly correlated with a correlation coefficient of -0.82 and a p-value of 0.012.

Overall, a stronger negative correlation was observed between the evolution of biogas production and that of CLD concentrations under the thermophilic conditions.

3. Supplementary figures

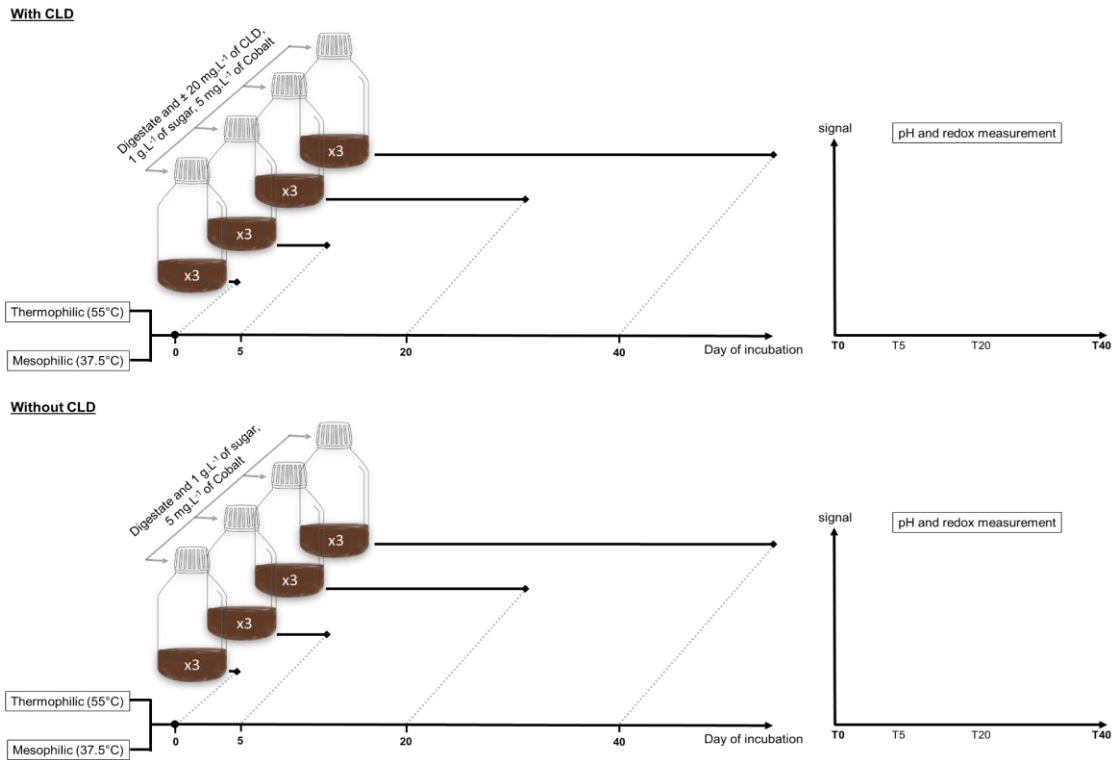


Figure S2.1. Scheme of the anaerobic digestion experiment with and without CLD in mesophilic and in thermophilic conditions.

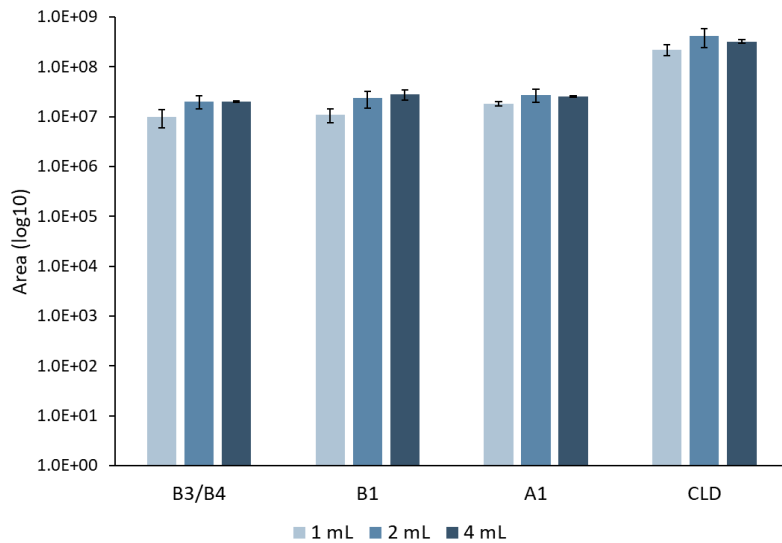


Figure S2.2. Response of CLD and detected TPs in GC-SIM-MS depending on the extracted volume of digestate with same QuEChERS extraction; error bars correspond to standard errors (n=3).

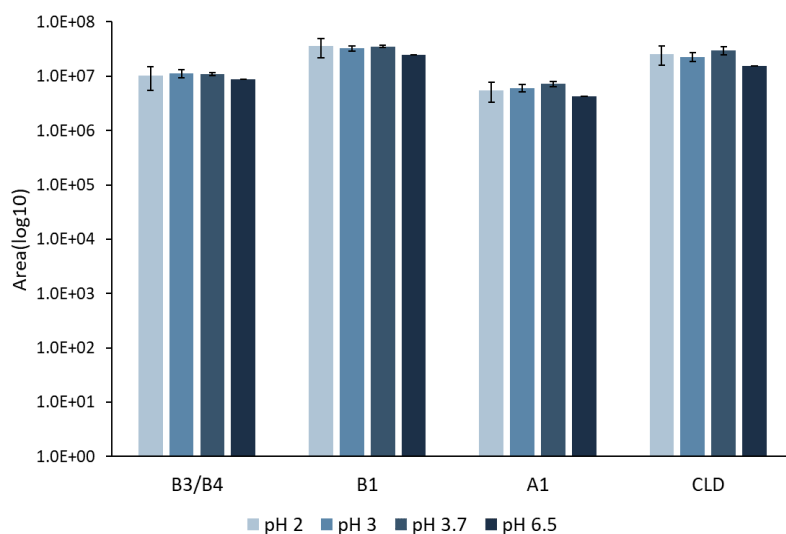


Figure S2.3. Influence of the pH on the extraction efficiencies of CLD and detected TPs in GC-SIM-MS. The error bars refer to the standard errors (n = 3).

```
(A) > ana<-aov(CLD ~ Trait, data=data)
> summary(ana)
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Trait      3  298.38   99.46    426.4 2.76e-08 ***
Residuals  7    1.63    0.23
---

```

```
(B) > bartlett.test(CLD ~ Trait)

Bartlett test of homogeneity of variances

data: CLD by Trait
Bartlett's K-squared = 2.2201, df = 3, p-value = 0.528

```

```
(C) > resid=residuals(ana)
> res=c(shapiro.test(resid))
> res
$statistic
      W
0.9786985

$P.value
[1] 0.9584915

```

```
(D) > TukeyHSD(aov(CLD ~ Trait))
Tukey multiple comparisons of means
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = CLD ~ Trait)

$Trait
      diff      lwr      upr    p adj
T20T-T0T -12.122180 -13.581569 -10.662790 0.0000001
T40T-T0T -14.641359 -16.100748 -13.181969 0.0000000
T5T-T0T  -6.989668  -8.449058  -5.530279 0.0000043
T40T-T20T  -2.519179  -3.824496  -1.213862 0.0016047
T5T-T20T   5.132511   3.827194   6.437829 0.0000166
T5T-T40T   7.651690   6.346373   8.957008 0.0000009

```

Figure S2.4. Examples of scripts for : (A) the analysis of variance (ANOVA) carried out to compare the average of chlordecone concentrations as a function of incubation time (CLD~Trait), (B) Bartlett Test, (C) Shapiro test and (D) Tukey's HSD test. ANOVA was conducted on the independent data after checking the homogeneity of the variances (Bartlett Test, p-value > 0.05) and the normality of the residues (Shapiro-Wilk Test, p-value > 0.05). The Tukey's HSD test was performed to compare the different incubation times in pairs. The following tests were carried out using the R software, version 4.1.0.

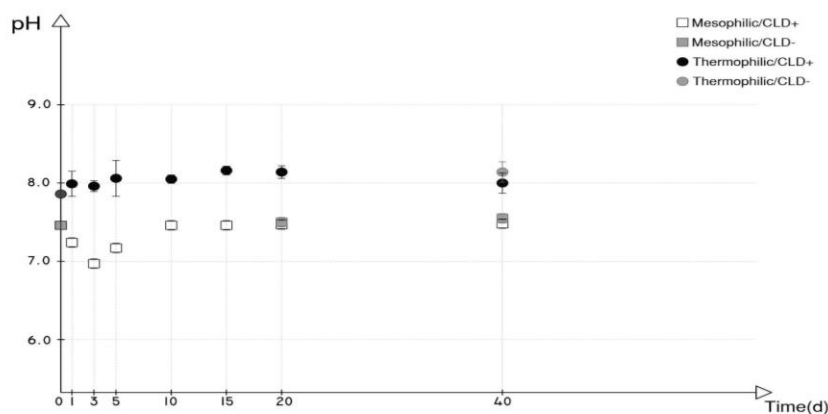


Figure S2.5. Average pH values obtained at different incubation times in mesophilic conditions in the presence of CLD (Mesophilic/CLD+) and without CLD (Mesophilic/CLD-) taken at around 25 °C, and in thermophilic conditions in the presence of CLD (Thermophilic/CLD+) and without CLD (Thermophilic/CLD-) taken at around 28 °C. At the end of each incubation period, an aliquot of 5 mL was taken from every bottle, out of which the pH was measured using a pH805 combination glass pH probe (reference Ag/AgCl), calibration was performed at 20 °C prior to measurements; the pH values were noted after stabilization of the measurement. The error bars represent the standard deviation (n=3 biological replicates).

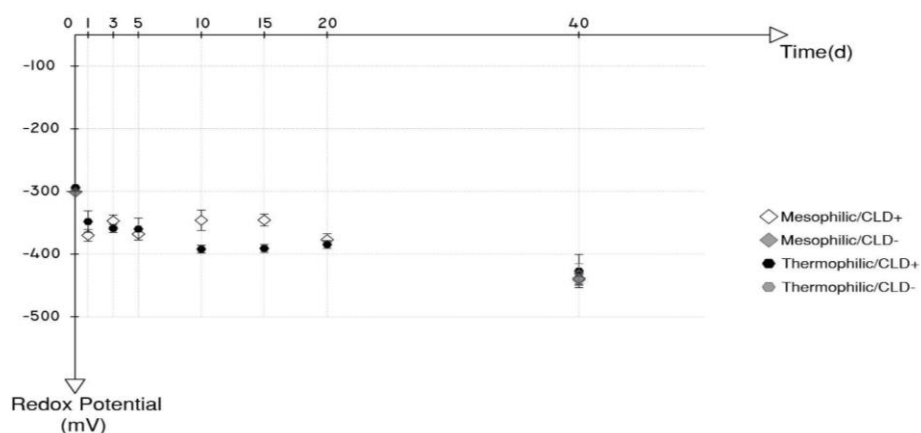


Figure S2.6. Average redox potential values obtained at different incubation times in mesophilic conditions in the presence of CLD (Mesophilic/CLD+) and without CLD (Mesophilic/CLD-), and in thermophilic conditions in the presence of CLD (Thermophilic/CLD+) and without CLD (Thermophilic/CLD-). At the end of each incubation period, an aliquot of 5 mL was taken from every bottle, out of which the redox potential was measured using a Schott PT6280 metal combination electrode (with Ag/AgCl reference electrode); the redox values were noted after stabilization of the measurement. The error bars represent the standard deviation (n=3 biological replicates).

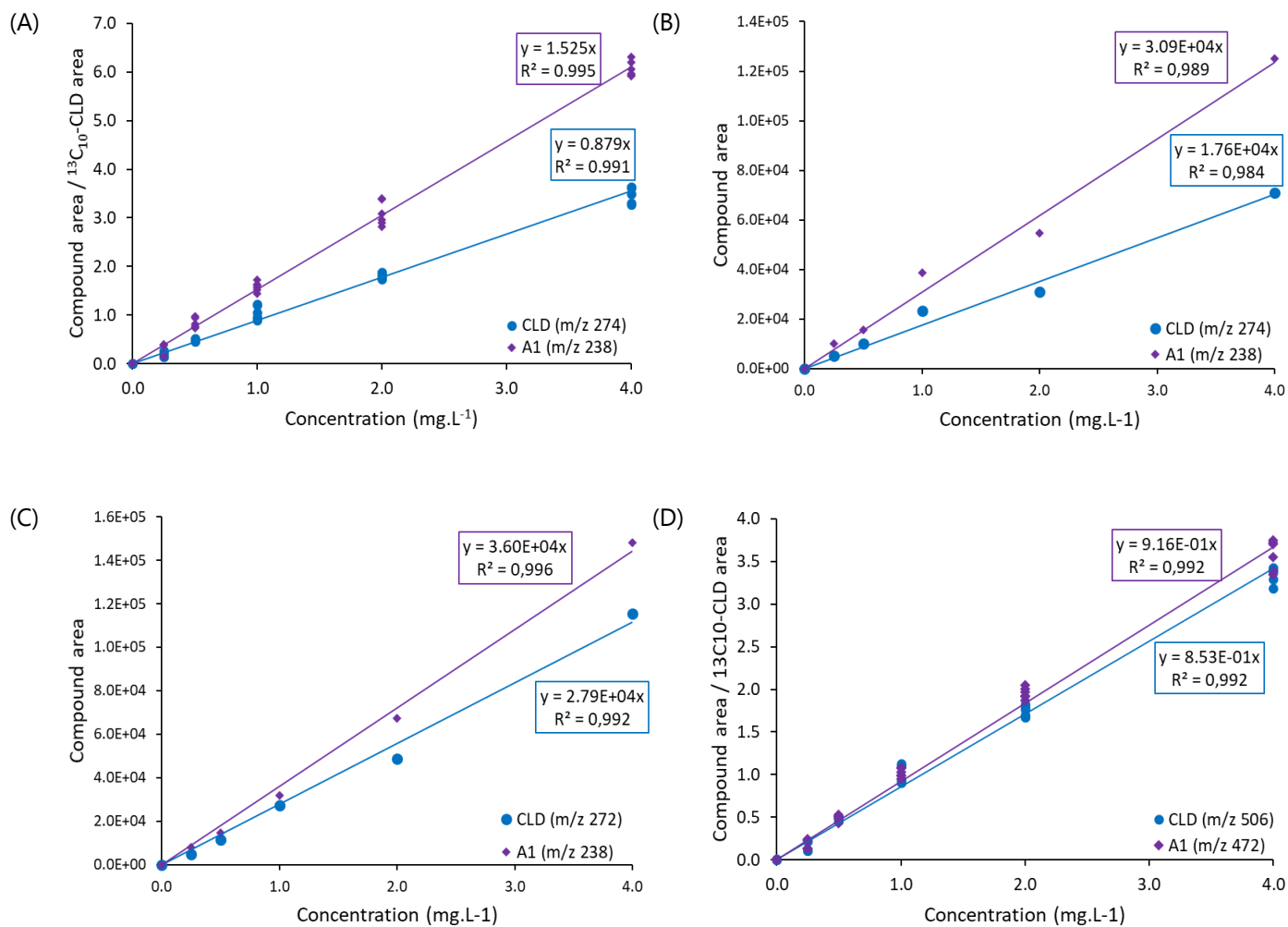


Figure S2.7. Response for a concentration range of 0-4 mg.L $^{-1}$ for: (A) A1 and CLD in function of $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (B) A1 and CLD (m/z 274) dissolved in solvent (hexane/acetone; 85/15) and analyzed in GC-SIM-MS, (C) A1 and CLD (m/z 272) dissolved in solvent (hexane/acetone; 85/15) and analyzed in GC-SIM-MS and (D) A1 and CLD (m/z 274) in function of $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS.

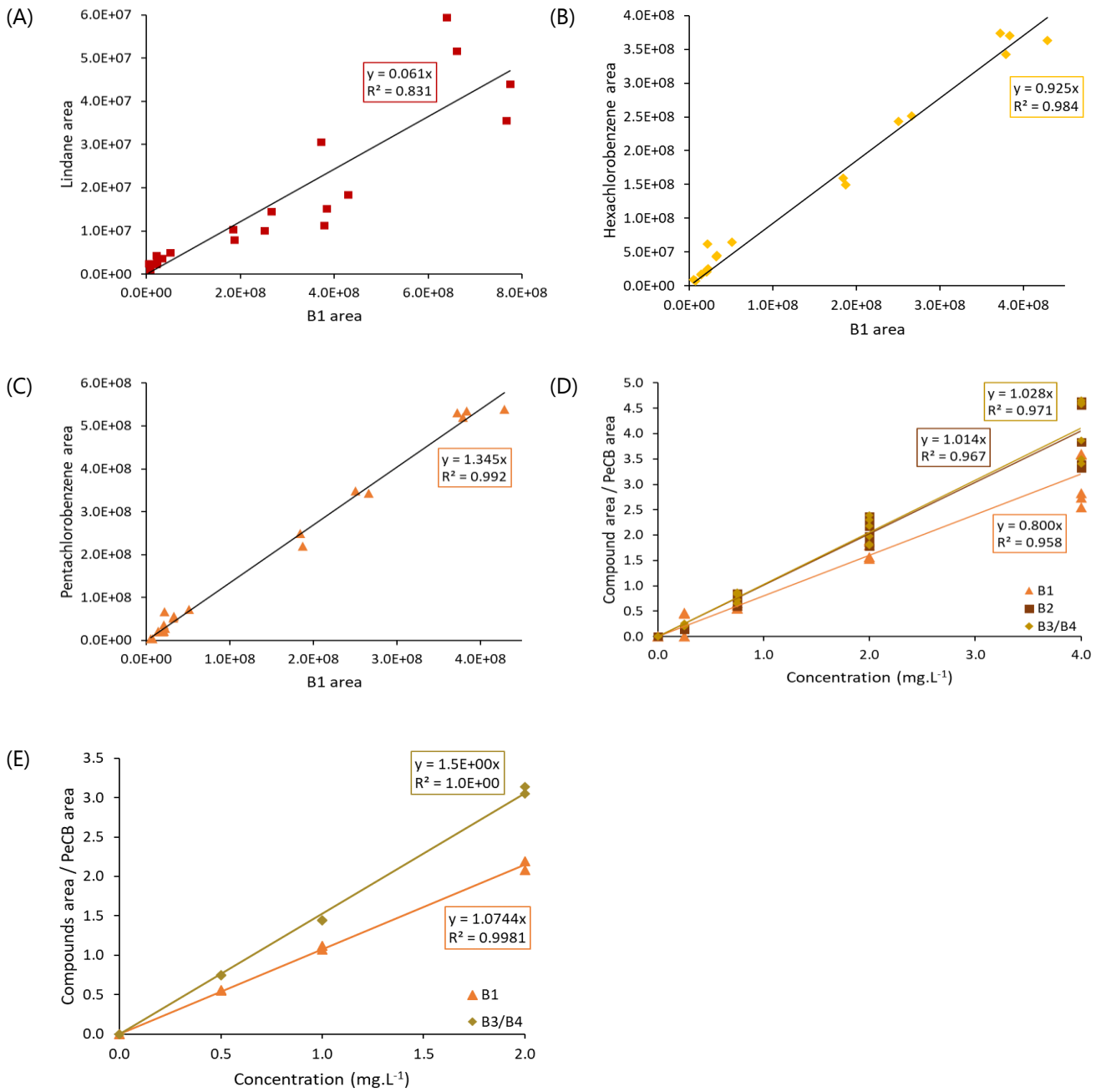


Figure S2.8. Response for a concentration range of 0-4 mg.L⁻¹ for: (A) lindane vs. B1 supplemented in mesophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (B) hexachlorobenzene vs. B1 supplemented in mesophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (C) pentachlorobenzene (PeCB) vs. B1 supplemented in mesophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS, (D) B1, B2 and B3/B4 (using PeCB as internal standard) supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS and (E) B1 and B3/B4 (using PeCB as internal standard) dissolved in solvent and analyzed in GC-SIM-MS.

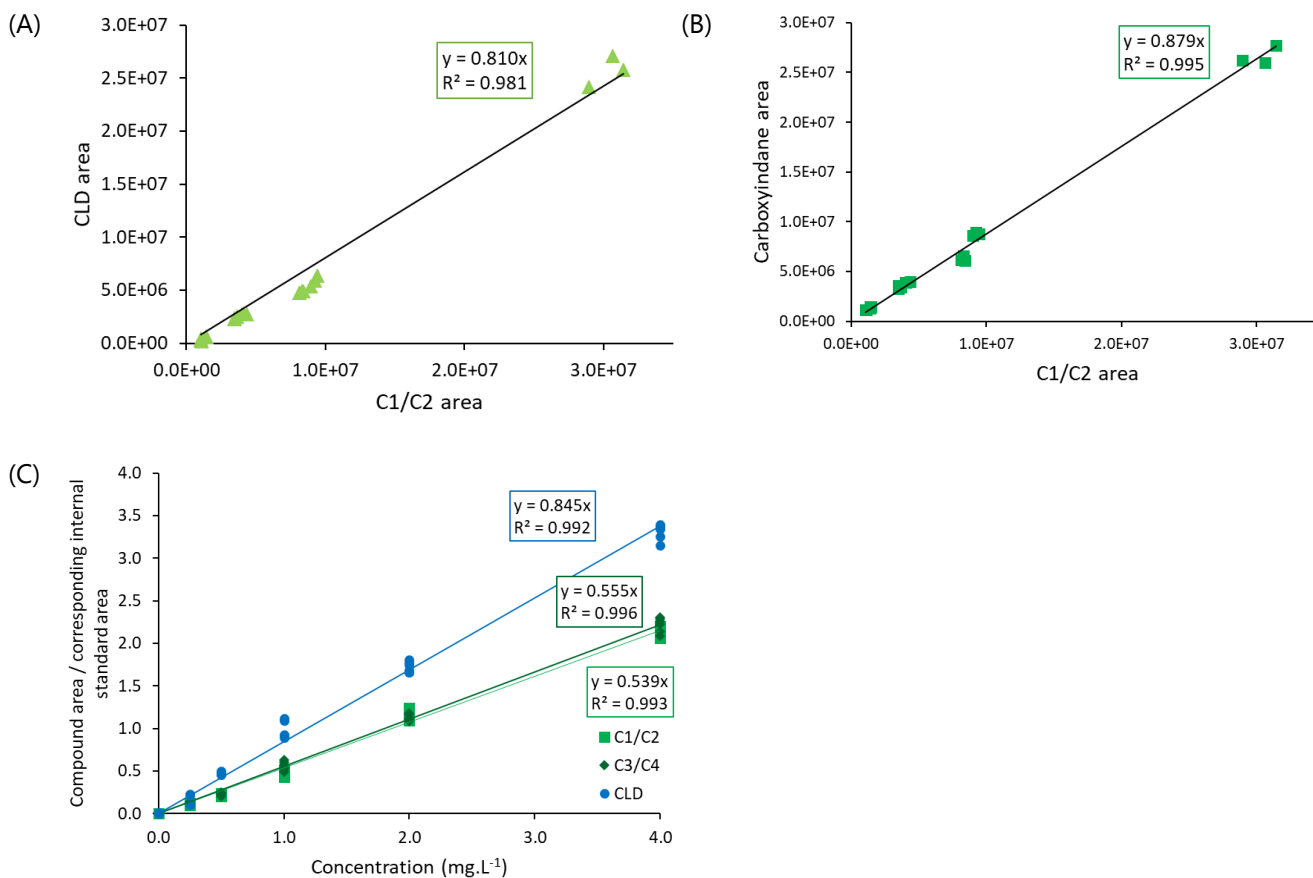


Figure S2.9. Response for a concentration range of 0-4 mg.L^{-1} for: (A) CLD vs. C1/C2 supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS, (B) carboxyindane vs. C1/C2 supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS, (C) C1/C2 and C3/C4 (using carboxyindane as internal standard) and CLD (using $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD as internal standard) supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in LC-HRMS.

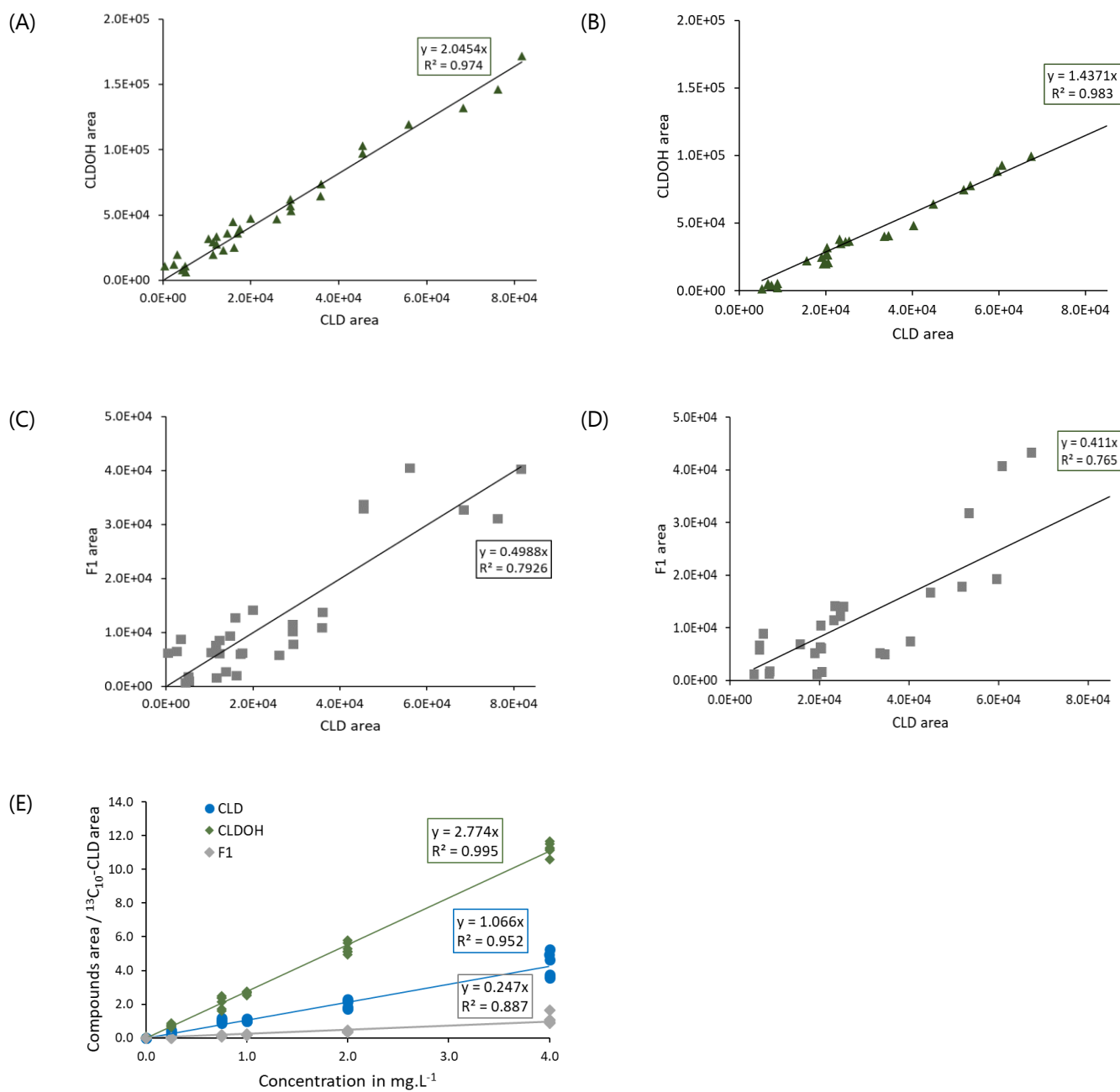


Figure S2.10. Response for a concentration range of 0-4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ for: (A) CLDOH vs. CLD (m/z 274) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS, (B) CLDOH vs. CLD (m/z 272) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS, (C) F1 vs. CLD (m/z 274) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS, (D) F1 vs. CLD (m/z 272) dissolved in solvent hexane/acetone (85/15) and analysed in GC-SIM-MS and (E) CLDOH, F1 and CLD (m/z 274) (using $^{13}\text{C}_{10}$ -CLD as internal standard) supplemented in thermophilic digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS.

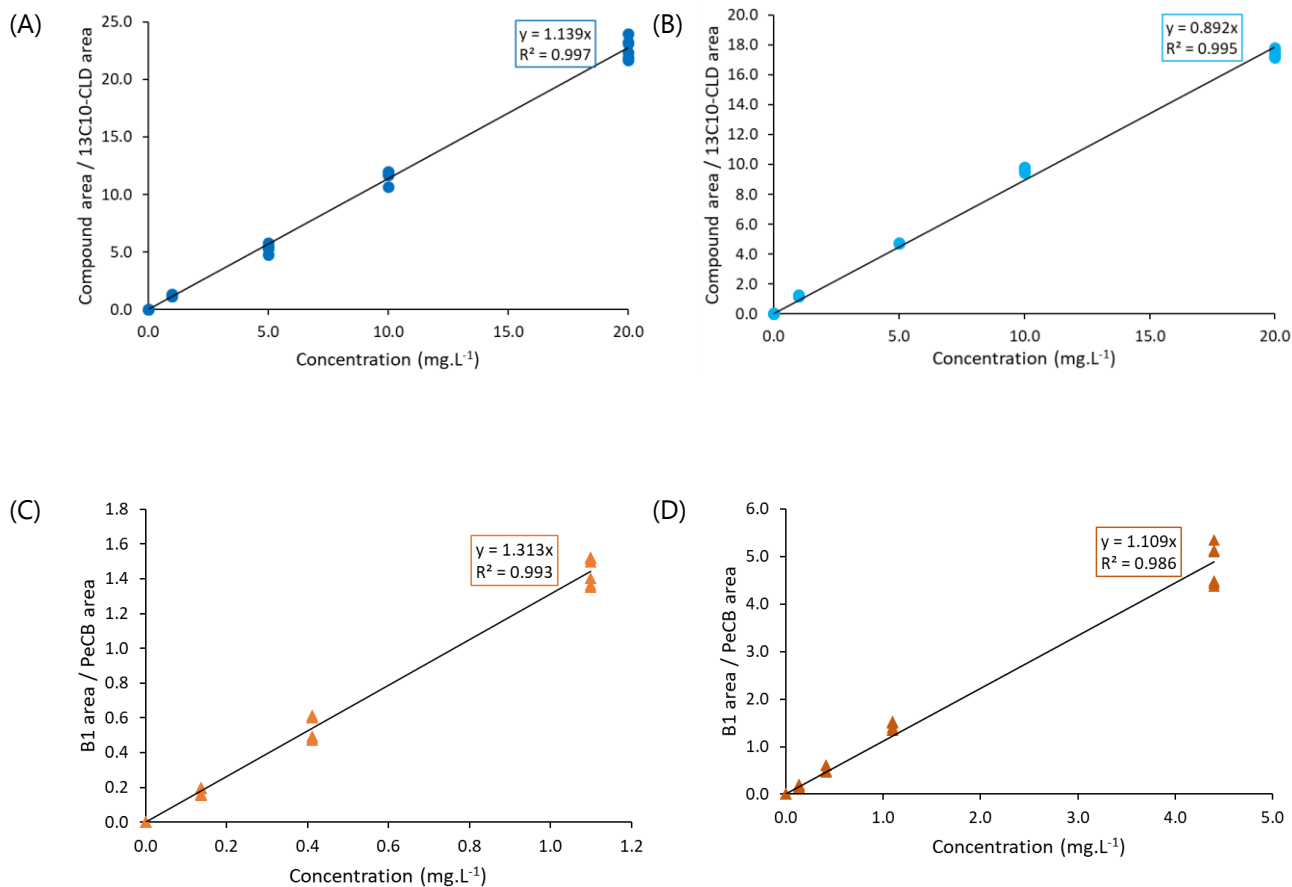


Figure S2.11. Example of calibration curves for mesophilic conditions at 0 day for: (A) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS, (B) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in LC-HRMS (range of concentrations 0-20 mg.L⁻¹), (C) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS (range of concentrations 0-1.1 mg.L⁻¹) and (D) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-MS (range of concentrations 0-4.4 mg.L⁻¹).

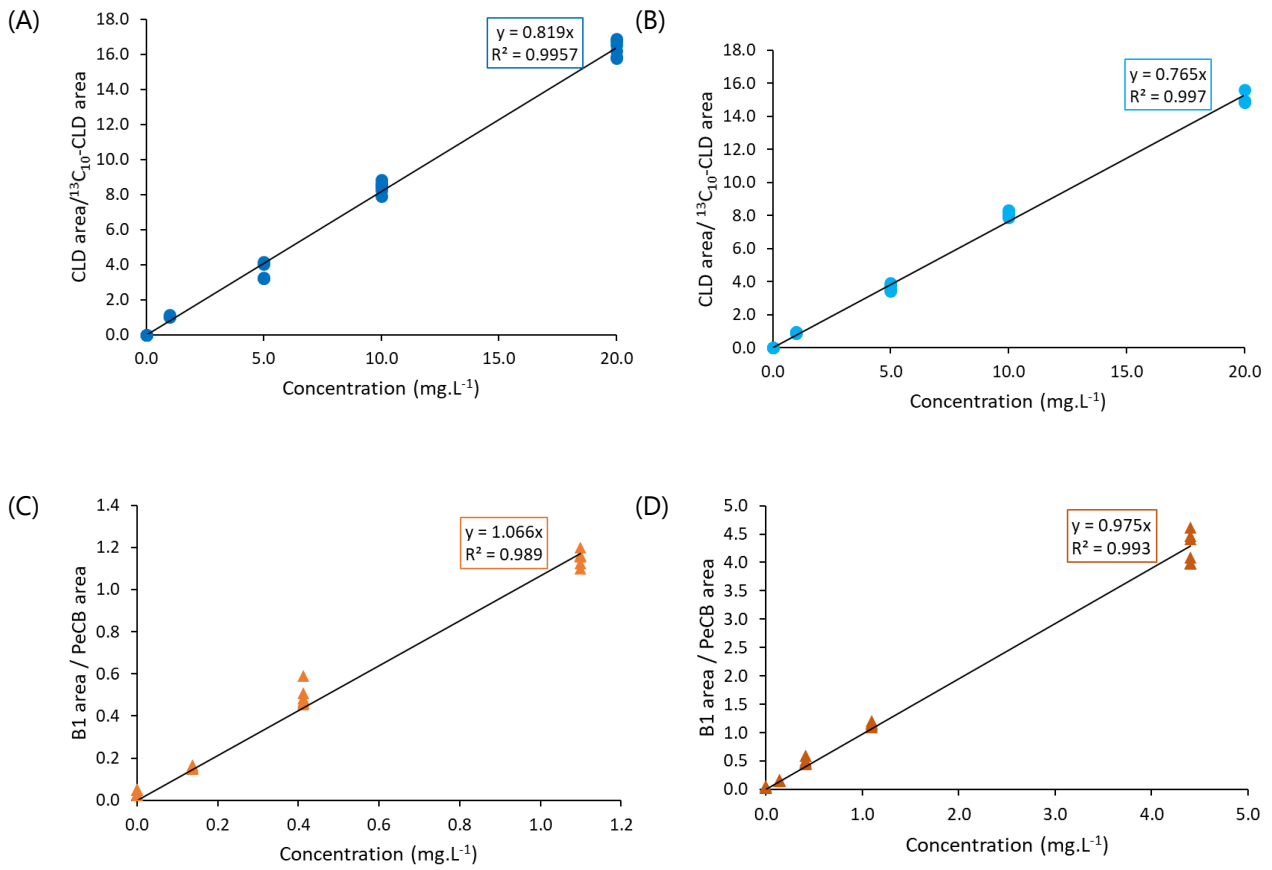


Figure S2.12. Example of calibration curves for thermophilic conditions at 0 day for: (A) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-SIM-MS, (B) CLD supplemented in blank digestate, extracted and analysed in LC-HRMS (range of concentrations 0-20 mg.L⁻¹), (C) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-MS (range of concentrations 0-1.1 mg.L⁻¹) and (D) B1 supplemented in blank digestate, extracted and analysed in GC-MS (range of concentrations 0-4.4 mg.L⁻¹).

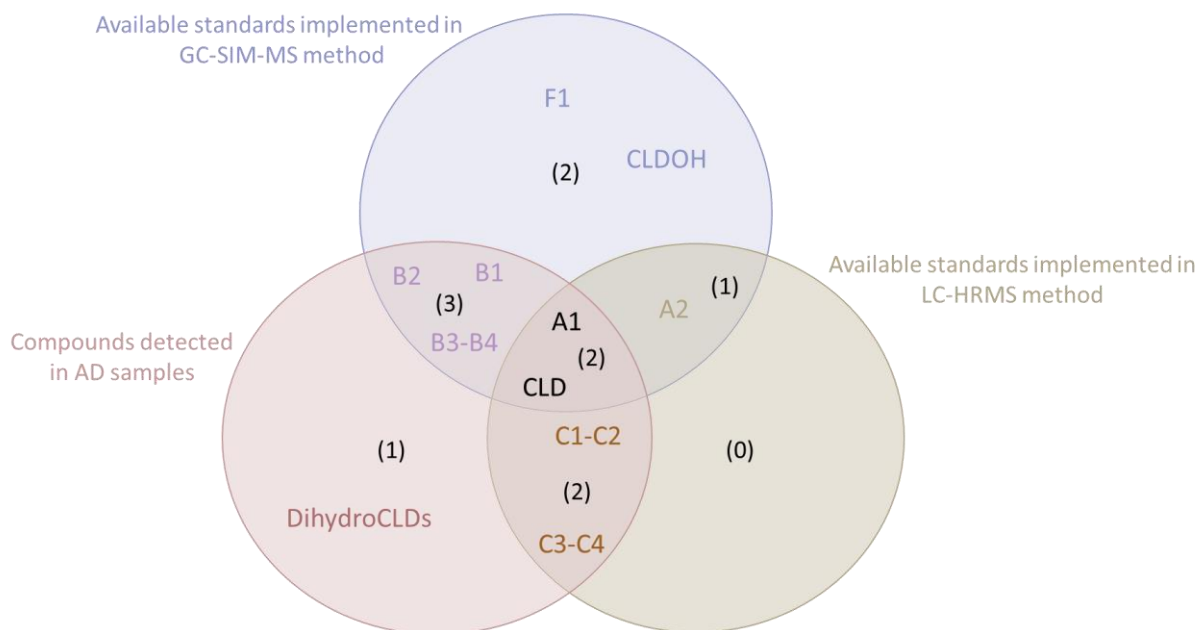


Figure S2.13. Venn diagram representing available standards implemented in GC-SIM-MS and/or in LC-HRMS method and compounds detected in AD samples.

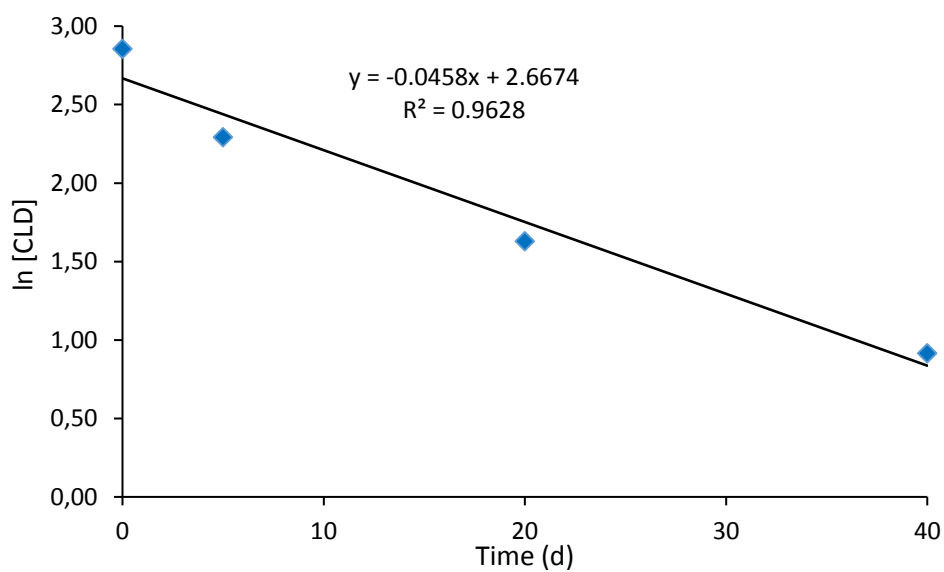


Figure S2.14. Evolution of CLD concentrations over time, under thermophilic conditions, modeled with a first order kinetic reaction.

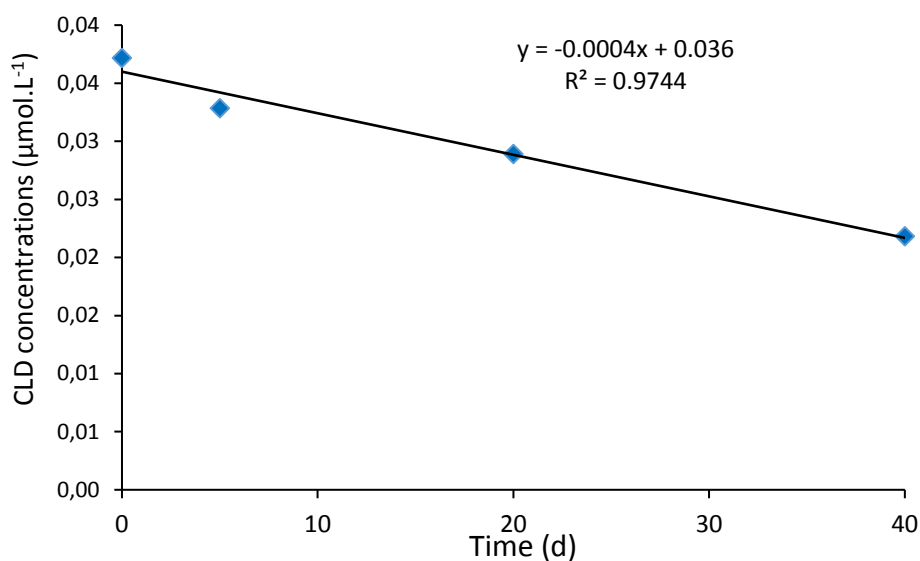


Figure S2.15. Evolution of CLD concentrations over time, under mesophilic conditions, modeled with a zero-order kinetic reaction.

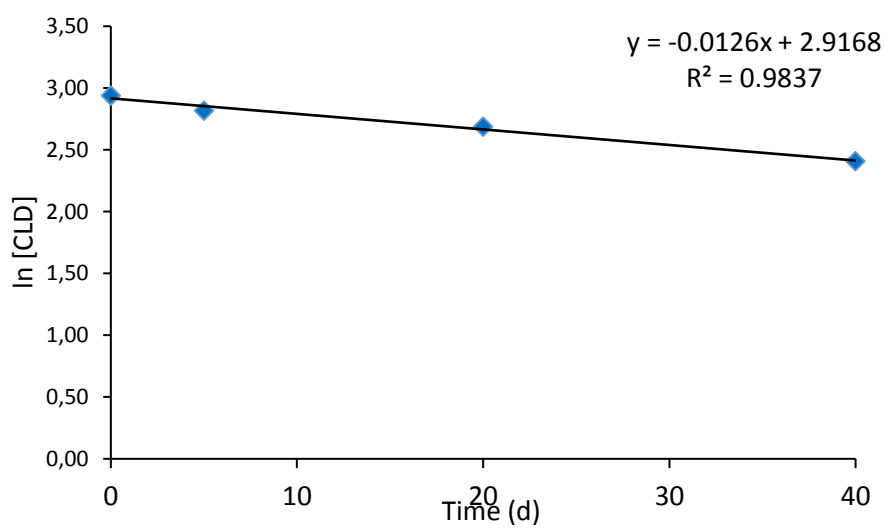


Figure S2.16. Evolution of CLD concentrations over time, under mesophilic conditions, modeled with a first-order kinetic reaction.

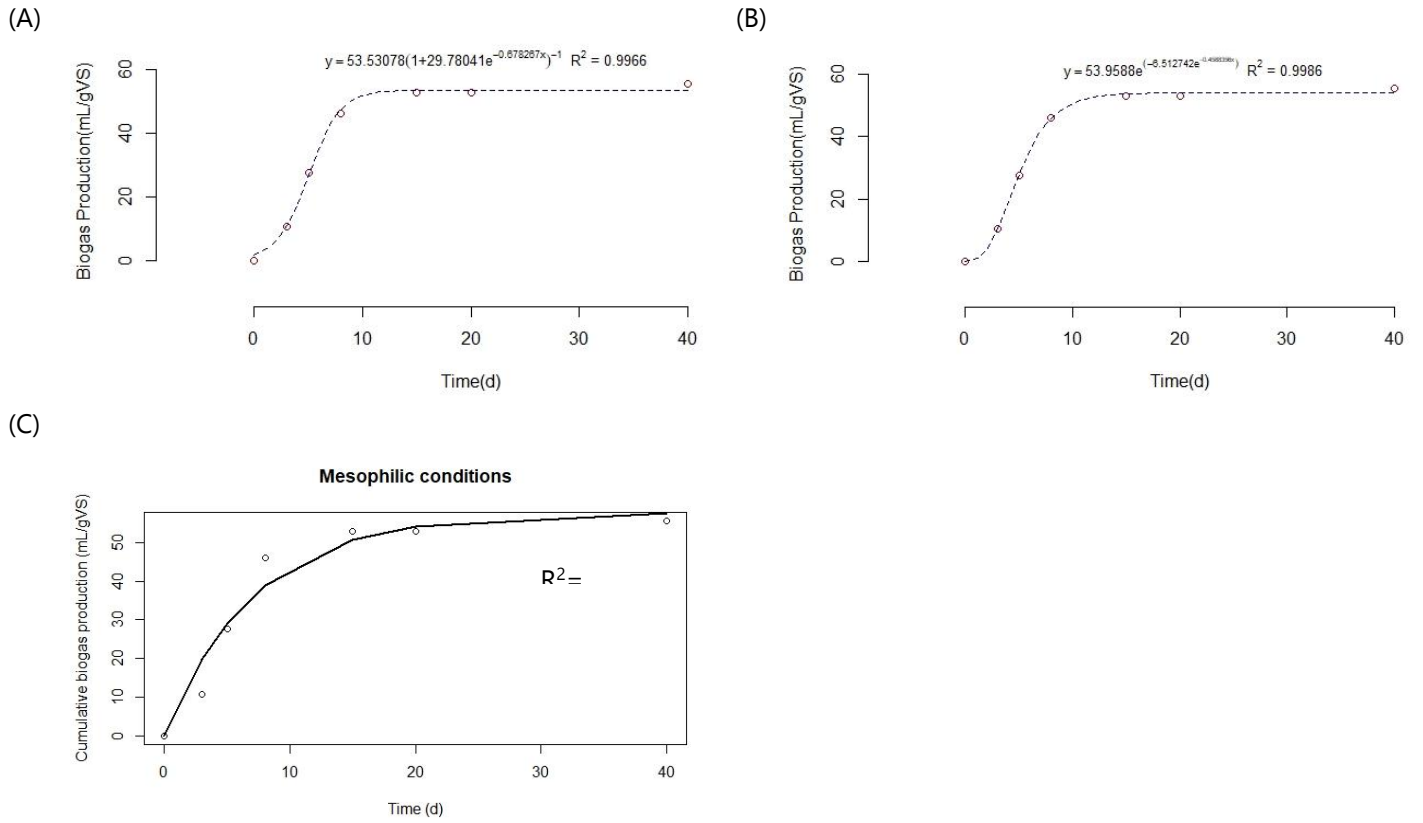


Figure S2.17. Modeling of biogas production under mesophilic conditions by: (A) logistic growth model, (B) Gompertz model and (C) exponential fit.

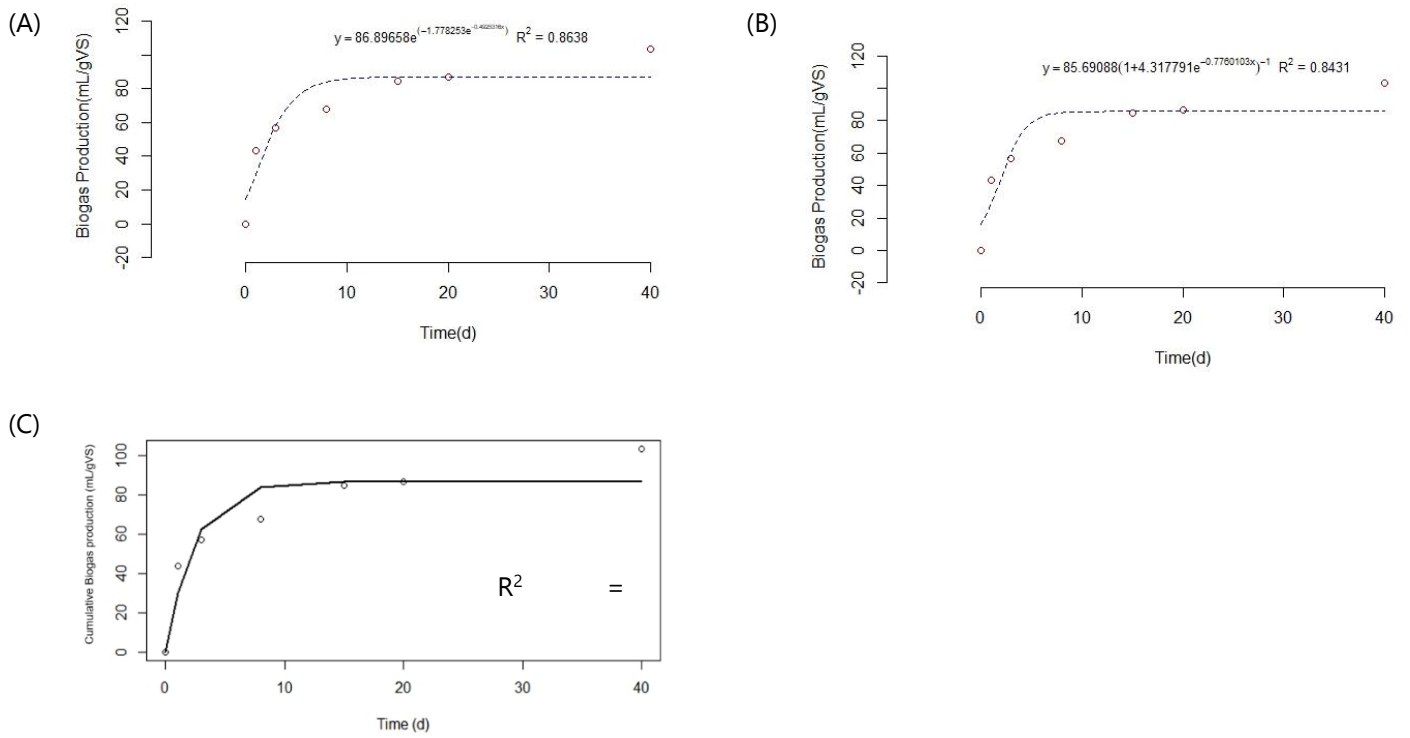


Figure S2.18. Modeling of biogas production under thermophilic conditions by: (A) logistic growth model, (B) Gompertz model and (C) exponential fit.

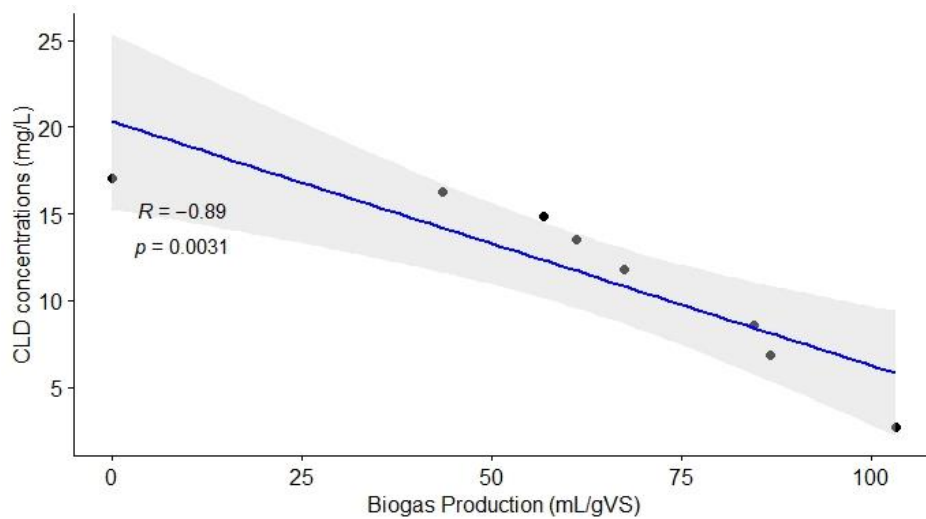


Figure S2.19. Correlation between CLD concentrations and biogas production under thermophilic conditions.

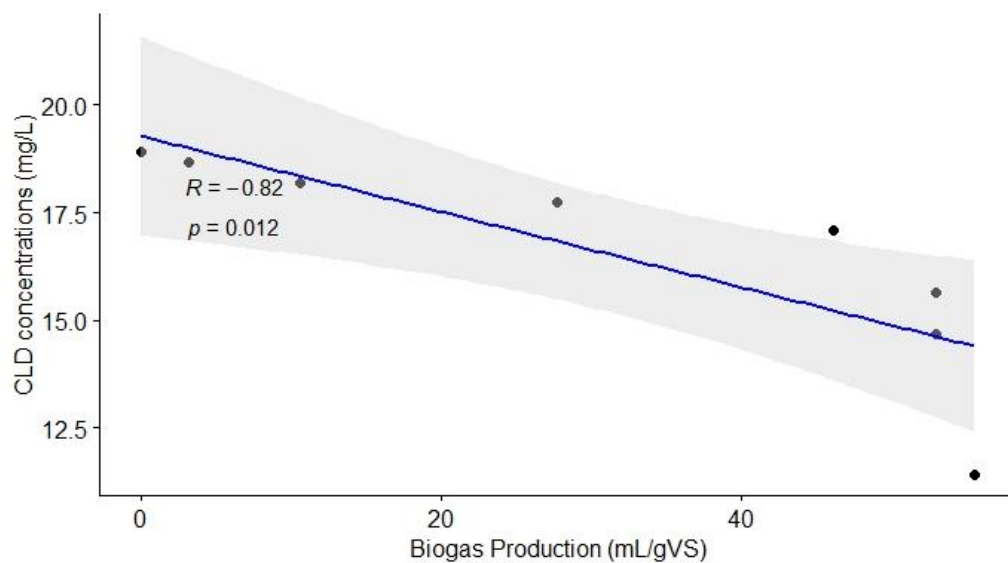


Figure S2.20. Correlation between CLD concentrations and biogas production under mesophilic conditions.

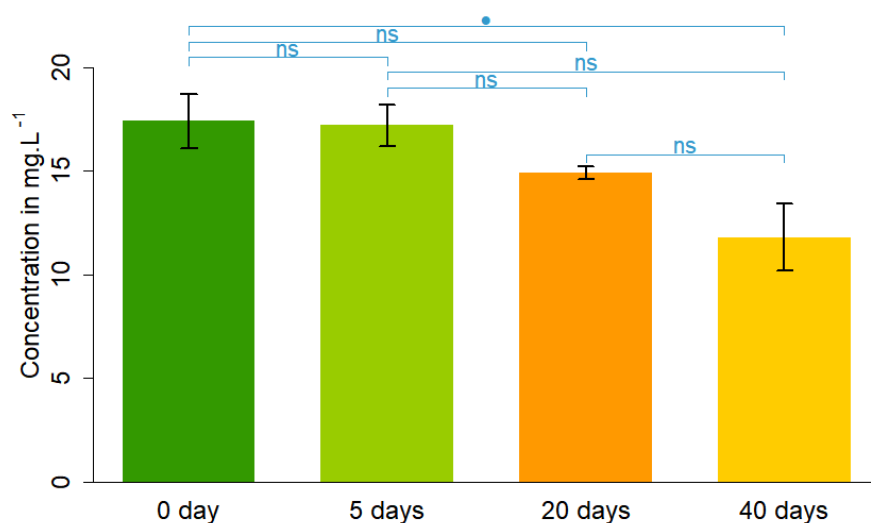


Figure S2.21. CLD concentrations under mesophilic conditions (37.5 °C) at different incubation times analyzed in GC-SIM-MS; the error bars represent the standard errors of the calculated means (n=6 composed of 3 biological replicates, each divided into two replicates further extracted and analyzed); the blue intervals represent the comparison between two times :• = 0.1 < Tukey's HSD p-value < 0.05; ns = not significant.

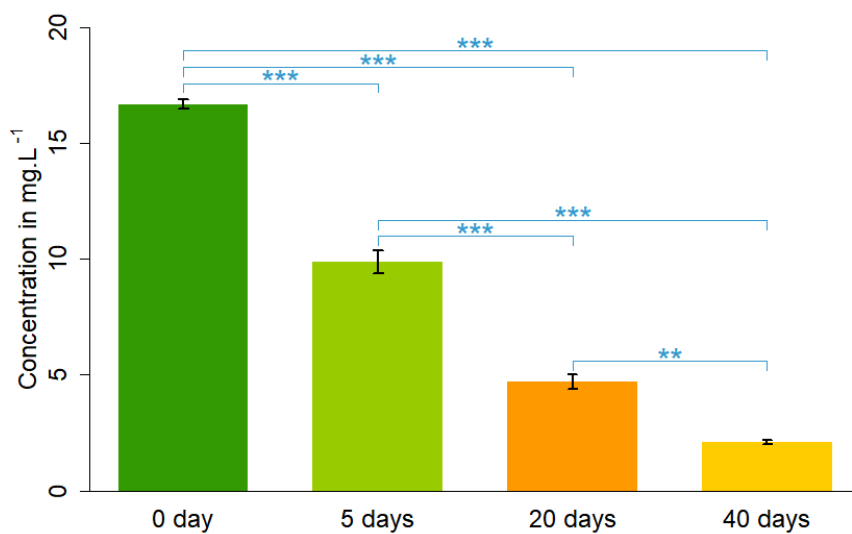


Figure S2.22. CLD concentration under thermophilic conditions (55 °C) analyzed in GC-SIM-MS; the error bars refer to the standard errors (n=6 composed of 3 biological replicates, each divided into two replicates further extracted and analyzed); the blue intervals represent the comparison between two times: • = 0.1 < Tukey's HSD p-value < 0.05; * = 0.05 < p-value < 0.001; ** = 0.001 < p-value < 0.0001; *** = p-value < 0.0001; ns = not significant.

4. Supplementary Tables

Characteristics	Mesophilic digestate	Thermophilic digestate
Source	Experimental farm of the ENSAIA	Industrial Methavos unit of Sarreguemines*
Origin	Animal origin	Plant origin
Issued from	10 L single-stage CSTR functioning under mesophilic conditions (40 °C)	1350 m ³ continuous digester functioning under thermophilic conditions (55 °C)
Digester's initial feed mixture	55 % bovine manure 25 % bovine slurry 15 % Brewer's spent grain 5 % Plant culture (maize)	50-70 % green waste 10 % agricultural products: maize-sorghum mixture in particular 13-20 % food industry waste: unsold fruits and vegetables (+honey, cocoa bean powder, glycerin)
Hydraulic retention time (HRL)	40 days	18 days
Separation of phases	no	yes (screw press)
Dry/wet system	wet	dry
% dry matter in the liquid digestate (TS)	11%	18.5%
% volatile solids (VS) from TS	63%	60%

Tableau S2.1. Specifications of the mesophilic and thermophilic liquid digestates tested in our experiment. *The thermophilic digestate was obtained from the Methavos unit and left at room temperature for 10 days prior to the launching of the experiment.

Compound	Formula	Rt (min)	Quantifying ion	Qualifying ion
CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	10.43	272 / 274	237
¹³ C ₁₀ -CLD	¹³ C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	10.43	277 / 279	242
A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	9.48	238	236
A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	9.24	272	237
B1	C ₉ Cl ₅ H ₃	6.88	253	288
B2	C ₉ Cl ₄ H ₄	5.51	217	254
B3/B4	C ₉ Cl ₄ H ₄	4.88	217	254
CLDOH	C ₁₀ Cl ₁₀ OH ₂	12.75	220	218
F1	C ₁₀ Cl ₁₀ SH ₂	13.36	236	475
PeCB	C ₆ Cl ₅ H	3.38	250	215

Tableau S2.2. List of target compounds analysed in GC-SIM-MS with their corresponding retention time (Rt), quantifying and qualifying ions used for SIM mode. For CLD and ¹³C₁₀-CLD, the first *m/z* was used for analyses of mesophilic conditions and the latter for analyses of thermophilic conditions (in italic). Rt = retention time.

Compound	Formula	Rt (min)	Quantifying ion	Qualifying ion
CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	6.80	506.6890	508.6763
¹³ C ₁₀ -CLD	¹³ C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	6.80	516.7140	518.7112
A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	6.38	472.7182	474.7147
A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	6.57	472.7182	474.7147
A3	C ₁₀ Cl ₈ O ₂ H ₄	6.38	438.7588	436.7617
C1/C2	C ₁₀ Cl ₄ O ₂ H ₄	4.72	296.8861	252.8971
C3/C4	C ₁₀ Cl ₃ O ₂ H ₅	4.86	262.9258	260.9281
Carboxyindane	C ₁₀ O ₂ H ₁₀	2.43	161.0608	-
CLDOH	C ₁₀ Cl ₁₀ OH ₂	7.34	490.6855	492.6829

Tableau S2.3. List of target compounds analyzed in LC-HRMS with their corresponding retention time (Rt), quantifying and qualifying ions.

	Volume of sample	Solvent	pH
Extraction 1	2 mL	tested	3
Extraction 2	tested	Hexane:Acetone	3
Extraction 3	2 mL	Hexane:Acetone	tested

Tableau S2.4. Summary of the conditions used for the development of the QuEChERS protocol.

Solvent	Replicate	B3/B4	B1	A1	CLD
Acetonitrile	1	nd	2.1E+05	1.2E+05	9.1E+05
	2	nd	2.2E+05	4.2E+05	1.2E+06
	3	1.2E+08	2.7E+08	1.0E+07	6.6E+07
Hexane/acetone (85/15, v/v)	1	2.6E+07	7.8E+07	8.9E+06	3.7E+07
	2	4.2E+07	1.1E+08	1.4E+07	6.3E+07
	3	2.8E+07	8.4E+07	6.8E+06	2.9E+07

Tableau S2.5. Response of CLD and detected TPs in the preliminary experiment, corresponding to a real digestate extracted after 40 days of incubation in mesophilic conditions and analysed in GC-SIM-MS depending on the extraction solvents used for QuEChERS protocol. nd = not detected.

		CLD	A1	A2	B1	B2	B3/B4	F1	CLDOH	C1/C2	C3/C4	D1/D2	D3/D4
Meso-	Low	60±4	61±6	62±6	57±5	59±6	57±3	25±7	62±6	45±4	71±12	61±14	79±24
	High	73±13	69±12	68±13	58±5	57±4	52±3	28±3	69±11	45±8	76±5	61±3	65±4
Thermo-	Low	68±10	65±11	60±8	47±7	60±8	54±6	31±10	60±8	40±9	59±3	74±21	78±15
	High	60±4	67±8	64±13	51±9	66±9	48±4	32±5	66±6	49±4	52±3	85±13	75±10

Tableau S2.6. Extraction efficiency (%) (n=4) for CLD and its TPs supplemented in mesophilic and thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS for families B and D, F1 and CLDOH and in LC-HRMS for CLD, families A and C. For CLD, the low and high levels correspond to 1 mg.L⁻¹ and 10 mg.L⁻¹, respectively. For the TPs, high concentrations ranged between 0.1 and 1 mg.L⁻¹, and the high/low level ratio was set at 4.

		CLD	A1	B1	B2	B3/B4	C1/C2	C3/C4	F1	CLDOH
GC-MS		102±8	106±6	100±9	95±14	99±13	-	-	77±10	98±3
LC-HRMS		104±6	114±6	-	-	-	92±6	101±10	-	-

Tableau S2.7. Accuracy (%) for CLD and its TPs supplemented in thermophilic digestate at 10 mg.L⁻¹ for CLD, 1 mg.L⁻¹ for A1, CLDOH, F1 and family C and 0.75 mg.L⁻¹ for family B (n=2), extracted and analyzed in GC-SIM-MS and in LC-HRMS.

		CLD	A1	B1	B2	B3/B4	C1/C2	C3/C4	F1	CLDOH
GC-MS	LOD	17	12	3	1	1	-	-	89	17
	LOQ	52.3	36.3	8.3	4	4	-	-	268	50
LC-HRMS	LOD	9	10	-	-	-	32	31	-	-
	LOQ	28	29	-	-	-	97	92	-	-

Tableau S2.8. Estimated limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) in µg.L⁻¹ for CLD and its TPs supplemented in thermophilic digestate, extracted and analyzed in GC-SIM-MS and in LC-HRMS; LOQ = 3 x LOD.

		Exponential rise to a maximum	Gompertz	Logistic Growth
Mesophilic conditions	Mesophilic/CLD+	0.951	0.9986	0.9966
	Mesophilic/CLD-	0.945	0.9989	0.996
Thermophilic conditions	Thermophilic/CLD+	0.8927	0.8638	0.8431
	Thermophilic/CLD-	0.9007	0.8725	0.8527

Tableau S2.9. R² values of the three tested models for the modeling of biogas production in mesophilic and thermophilic conditions, in the presence (CLD+) and absence of CLD (CLD-). Bold values correspond of the best fit among the three models for each data set.

	Mesophilic conditions	Thermophilic conditions
T-test p-value	0.2062	0.4772

Tableau S2.10. Obtained p-values of the t-test conducted to compare the adjusted average biogas production in mesophilic and thermophilic digestate supplemented with CLD and the negative controls (without CLD).

Incubation under Thermophilic conditions	Compounds	ANOVA p-value	Significance codes
GC-MS analysis	CLD	2.01E-10	***
	A1	2.56E-09	***
	B1	1.88E-10	***
	B3/B4	4.95E-12	***
LC-HRMS analysis	CLD	2.00E-16	***
	A1	5.42E-15	***
	DihydroCLDs	1.84E-13	***
	C1/C2	1.22E-08	***
	C3/C4	6.06E-12	***

Tableau S2.11. ANOVA p-values for the obtained concentrations of each compound with incubation times under thermophilic conditions. *** : p-value < 0.001.

Incubation under Mesophilic conditions	Compounds	ANOVA p-value	Significance codes
GC-MS analysis	CLD	3.19E-02	*
	A1	2.40E-08	***
	B1	1.49E-07	***
	B3/B4	4.28E-10	***
LC-HRMS analysis	CLD	3.72E-03	**
	A1	4.17E-06	***
	C1/C2	3.02E-03	**
	C3/C4	1.50E-03	**

Tableau S2.12. The ANOVA p-values of the obtained concentrations of each molecule with incubation times under mesophilic conditions. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001.

Thermophilic conditions GC-MS analysis	Times	p-value	Significance code
CLD	T20-T0	<1.00E-07	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	<1.00E-07	***
	T40-T20	1.90E-06	***
	T5-T20	<1.00E-07	***
	T5-T40	<1.00E-07	***
A1	T20-T0	3.30E-06	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	1.69E-04	***
	T40-T20	1.06E-04	*
	T5-T20	1.49E-01	ns
	T5-T40	1.40E-06	***
B1	T20-T0	1.00E-07	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	9.82E-03	**
	T40-T20	1.24E-03	**
	T5-T20	2.28E-05	***
	T5-T40	<1.00E-07	***
B3/B4	T20-T0	<1.00E-07	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	4.65E-04	***
	T40-T20	1.55E-03	**
	T5-T20	5.00E-07	***
	T5-T40	<1.00E-07	***

Tableau S2.13. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under thermophilic conditions using GC-MS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.

Thermophilic conditions LC-HRMS analysis	Times	p-value	Significance code
CLD	T20-T0	<1.00E-07	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	<1.00E-07	***
	T40-T20	1.90E-06	***
	T5-T20	<1.00E-07	***
	T5-T40	<1.00E-07	***
A1	T20-T0	3.30E-06	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	1.69E-04	***
	T40-T20	1.06E-04	***
	T5-T20	1.49E-01	ns
	T5-T40	1.40E-06	***
DihydroCLDs	T20-T0	<1.00E-07	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	2.71E-03	***
	T40-T20	<1.00E-07	***
	T5-T20	1.60E-06	***
	T5-T40	<1.00E-07	***
C1/C2	T20-T0	1.16E-01	ns
	T40-T0	5.00E-03	**
	T5-T0	8.84E-01	ns
	T40-T20	3.41E-01	ns
	T5-T20	2.85E-01	ns
	T5-T40	1.07E-02	*
C3/C4	T20-T0	6.80E-02	ns
	T40-T0	2.33E-03	**
	T5-T0	7.94E-01	ns
	T40-T20	3.06E-01	ns
	T5-T20	2.41E-01	ns
	T5-T40	7.23E-03	**

Tableau S2.14. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under thermophilic conditions using LC-HRMS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.

Mesophilic conditions GC-MS analysis	Times	p-value	Significance code
CLD	T20-T0	5.52E-01	ns
	T40-T0	3.95E-02	*
	T5-T0	9.97E-01	ns
	T40-T20	4.13E-01	ns
	T5-T20	6.66E-01	ns
	T5-T40	5.83E-02	ns
A1	T20-T0	8.05E-05	**
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	5.02E-01	ns
	T40-T20	5.76E-03	**
	T5-T20	1.99E-03	**
	T5-T40	6.00E-07	***
B1	T20-T0	1.84E-04	***
	T40-T0	8.00E-06	***
	T5-T0	1.00E-07	***
	T40-T20	4.89E-01	ns
	T5-T20	6.30E-03	**
	T5-T40	1.29E-01	ns
B3/B4	T20-T0	2.98E-05	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	4.72E-01	ns
	T40-T20	5.09E-05	***
	T5-T20	7.97E-04	***
	T5-T40	<1.00E-07	***

Tableau S2.15. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under mesophilic conditions using GC-MS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.

Mesophilic conditions LC-HRMS analysis	Times	p-value	Significance code
CLD	T20-T0	3.18E-01	ns
	T40-T0	2.00E-03	**
	T5-T0	4.53E-01	ns
	T40-T20	1.18E-01	ns
	T5-T20	9.94E-01	ns
	T5-T40	7.24E-02	•
A1	T20-T0	1.82E-03	**
	T40-T0	2.30E-06	***
	T5-T0	1.00E-01	ns
	T40-T20	3.81E-02	*
	T5-T20	2.85E-01	ns
	T5-T40	6.25E-04	***
C1/C2	T20-T0	8.31E-04	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	9.95E-01	ns
	T40-T20	3.87E-04	***
	T5-T20	2.08E-03	***
	T5-T40	1.00E-07	***
C3/C4	T20-T0	6.26E-05	***
	T40-T0	<1.00E-07	***
	T5-T0	9.96E-01	ns
	T40-T20	1.00E-07	***
	T5-T20	1.66E-04	***
	T5-T40	<1.00E-07	***

Tableau S2.16. The Tukey's HSD p-values for the obtained concentrations under mesophilic conditions using LC-HRMS analysis. *: 0.01 < p-value < 0.05; **: 0.001 < p-value < 0.01; ***: p-value < 0.001; ns: not significant.

	Incubation time	CLD	A1	DihydroCLDs	B1	B3/B4	C1/C2	C3/C4
GC-MS	0 day	17.4±1.3	nd	-	0.76±0.1	nd	-	-
	5 days	17.2±1.0	0.12±0.05	-	0.10±0.02	0.012±0.001	-	-
	20 days	14.9±0.3	0.48±0.04	-	0.37±0.02	0.041±0.003	-	-
	40 days	11.8±1.6	0.77±0.07	-	0.27±0.02	0.063±0.007	-	-
LC-HRMS	0 day	18.3±1.1	nd	nd	-	-	nd	nd
	5 days	15.8±1.1	0.45±0.9	nd	-	-	nd	nd
	20 days	15.1±1.0	0.80±0.01	0.012±0.002	-	-	0.17±0.02	0.10±0.01
	40 days	10.7±1.4	1.3±0.2	0.027±0.004	-	-	0.35±0.05	0.26±0.03

Tableau S2.17. Concentrations in mg.L⁻¹ of CLD and detected TPs in mesophilic conditions depending on the incubation time in GC-MS and in LC-HRMS. Concentrations in italics represent the concentrations <LOQ that were estimated; nd= not detected. Uncertainty corresponds to standard error (n=6).

	Incubation time	CLD	A1	DihydroCLDs	B1	B3/B4	B2	C1/C2	C3/C4
GC-MS	0 day	17.9±0.3	nd	-	0.066±0.009	nd	nd	-	-
	5 days	10.3±0.3	0.78±0.02	-	0.26±0.02	0.057±0.005	nd	-	-
	20 days	4.9±0.2	1.5±0.1	-	0.56±0.05	0.14±0.01	nd	-	-
	40 days	2.2±0.1	2.5±0.2	-	0.77±0.03	0.19±0.01	0.0048±0.0003	-	-
LC-HRMS	0 day	17.4±0.3	nd	nd	-	-	-	nd	nd
	5 days	9.9±0.3	0.82±0.04	0.016±0.001	-	-	-	0.14±0.02	0.18±0.01
	20 days	5.1±0.1	1.2±0.1	0.042±0.002	-	-	-	0.44±0.05	0.51±0.04
	40 days	2.5±0.1	1.48±0.02	0.076±0.004	-	-	-	0.72±0.21	0.82±0.23

Tableau S2.18. Concentrations in mg.L⁻¹ of CLD and detected TPs in thermophilic conditions depending on the incubation time in GC-MS and in LC-HRMS. DihydroCLDs to the sum of the concentrations of the two dihydroCLD detected. Concentrations in italics represent the concentrations <LOQ that were estimated; nd= not detected. Concentrations in Uncertainty corresponds to standard error (n=6).

Condition of the acidic step	CLD	A1	B1	B3/B4
Without	2.2±0.1	2.5±0.2	0.77±0.03	0.19±0.01
With	2.4±0.1	2.7±0.2	0.63±0.5	0.16±0.1

Tableau S2.19. Concentrations in mg.L⁻¹ of CLD, A1, B1 and B3/B4 in thermophilic conditions in GC-MS with and without the addition of the strong acidic step during the QuEChERS procedure. Uncertainty corresponds to standard error (n=3).

	Compounds	Formula	Rt (min)	Most intense <i>m/z</i>	Type of screening	Internal standard	Detection
Family A	CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	10.43	272	target	¹³ C ₁₀ -CLD	yes
	A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	9.48	238	target	¹³ C ₁₀ -CLD	yes
	A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	9.24	272	target	¹³ C ₁₀ -CLD	no
	A3	C ₁₀ Cl ₈ O ₂ H ₄	-	238	suspect	-	no
	DihydroCLD	C ₁₀ Cl ₈ O ₂ H ₄	-	238/202/204	suspect	-	no
	TrihydroCLD	C ₁₀ Cl ₇ O ₂ H ₅	-	238/204	suspect	-	no
	TetrahydroCLD	C ₁₀ Cl ₆ O ₂ H ₆	-	204	suspect	-	no
	PentahydroCLD	C ₁₀ Cl ₅ O ₂ H ₅	-	168/184	suspect	-	no
Family B	B1	C ₉ Cl ₅ H ₃	6.88	253	target	PeCB	yes
	B2	C ₉ Cl ₄ H ₄	5.51	217	target	PeCB	yes
	B3/B4	C ₉ Cl ₄ H ₄	4.88	217	target	PeCB	yes
	B5	C ₉ Cl ₃ H ₅	-	183/185	suspect	-	no
	B5H2	C ₉ Cl ₃ H ₇	-	185/187	suspect	-	no
Family F	F1	C ₁₀ Cl ₁₀ SH ₂	13.36	236	target	¹³ C ₁₀ -CLD	no
	F2	C ₁₀ Cl ₉ SH ₃	-	236	suspect	-	no
	F3	C ₁₀ Cl ₉ SH ₃	-	236	suspect	-	no
	F5	C ₁₁ Cl ₁₀ SH ₄	-	203	suspect	-	no
Family G	CLDOH	C ₁₀ Cl ₁₀ OH ₂	12.75	220	target	¹³ C ₁₀ -CLD	no

Tableau S2.20. All information for analyses of CLD and its TPs in GC-MS. Rt = retention time.

	Compounds	Formula	Rt (min)	Most in-tense <i>m/z</i>	Type of screening	Internal standard	Detection
	CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	6.80	506.6810	target	¹³ C ₁₀ -CLD	yes
Family A	A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	6.39	472.7200	target	¹³ C ₁₀ -CLD	yes
	A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	6.57	472.7200	target	¹³ C ₁₀ -CLD	no
	A3	C ₁₀ Cl ₈ O ₂ H ₄	6.13	438.7588	target	¹³ C ₁₀ -CLD	no
	DihydroCLD	C ₁₀ Cl ₈ O ₂ H ₄	-	438.7588	suspect	-	yes
	TrihydroCLD	C ₁₀ Cl ₇ O ₂ H ₅	-	402.8007	suspect	-	no
	TetrahydroCLD	C ₁₀ Cl ₆ O ₂ H ₆	-	368.8397	suspect	-	no
	PentahydroCLD	C ₁₀ Cl ₅ O ₂ H ₅	-	334.8786	suspect	-	no
Family C	C1/C2	C ₁₀ Cl ₄ O ₂ H ₃	4.71	296.8861	target	Carboxyindane	yes
	C3/C4	C ₁₀ Cl ₃ O ₂ H ₅	7.87	260.9281	target	Carboxyindane	yes
	C5/C6	C ₁₀ Cl ₃ O ₂ H ₅	-	216.9381	suspect	-	no
	C7/C8	C ₁₀ Cl ₂ O ₂ H ₆	-	226.9676	suspect	-	no

Tableau S2.21. All information for analyses of CLD and its TPs in LC-HRMS. Rt = retention time.

Annexe S3. Supplementary Information of « Analysis of chlordecone, its transformation products and several organochlorine pesticides in water from French West Indies by SPME-GC-MS »

1. Supporting methods

M1. NMR facility

NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 600 MHz NMR spectrometer equipped with a cryoprobe (Université Evry-Val-d'Essonne/Université Paris-Saclay). Chemical shifts (expressed in parts per million) of ^1H and ^{13}C NMR spectra were referenced to the solvent peaks δ H 5.33 and δ C 53.90 for CD_2Cl_2 , unless otherwise noted. The abbreviations s and t stand for singlet and triplet signal respectively.

M2. Synthesis of chlordecol (CLDOH)

55 mg (1.5 mmol) of sodium borohydride were added to a 10-mL 2-propanolic solution of chlordecone (CLD) (250 mg, 0.5 mmol). The solution was stirred overnight under N_2 at room temperature. 2-propanol was evaporated under reduced pressure and the extract was dissolved with 5 mL of 5 % sulfuric acid (H_2SO_4) was added. The acidic solution was extracted with pentane (3 x 100 mL) and the organic extract was washed twice with 0.5 M NaOH (2 x 15 mL). The pentane phase was dried over anhydrous magnesium sulfate and then evaporated to dryness. The crude compound was purified by silica gel column chromatography with dichloromethane to give a white powder (225 mg, 90 %). HRMS (ESI⁻): m/z 486.6924, calculated for $\text{C}_{10}\text{Cl}_{10}\text{OH}$ [M-H]⁻: 486.6918 (Figure S3.1). ^1H NMR (CD_2Cl_2 , 600 MHz) δ (ppm): 2.77 (s, 1H), 4.32 (s, 1H) (Figure S3.2). Consistent with what has been described elsewhere (Fariss et al., 1982).

M3. Synthesis of 10-monodeuteriochlordecol (CLDOH-d)

13 mg (0.3 mmol) of sodium borodeuteride (98 atom % D) was added to a 1.5 mL methanol-deuterated (CD_3OD) solution of CLD (50 mg, 0.1 mmol). After the solution was stirred overnight under N_2 at room temperature, CD_3OD was evaporated under reduced pressure and 5 mL of 5 % deuterated sulfuric acid (D_2SO_4) was added. The acidic solution was extracted with pentane (3 x 100 mL) and the organic extract was washed twice with 0.5 M NaOH (2 x 15 mL) to eliminate unreacted CLD. The pentane was dried over anhydrous magnesium sulfate and then evaporated to dryness to give a white residue (46 mg, 93 %). HRMS (ESI⁻): m/z 487.6993, calculated for $\text{C}_{10}\text{Cl}_{10}\text{OD}$ [M-H]⁻: 487.6981 (Figure S3.3). ^1H

NMR (CD₂Cl₂, 600 MHz) δ (ppm): 2.57 (s, 1H) (Figure S3.4). ¹³C RMN (CD₂Cl₂, 150 MHz) δ (ppm): 74.4, 77.1, 78.1, 80.8 (t, 1:1:1), 83.6, 92.1 (Figure S3.5). ¹H NMR consistent with what has been described elsewhere (Fariss et al., 1982).

M4. Synthesis of 5-methylchlordecol (CLDOH-Me)

A solution of methylmagnesium bromide (CH₃MgBr, 65 μ L, 0.195 mmol, 3 M in diethyl ether) was added dropwise to a stirred solution of 10 mL CLD (100 mg, 0.195 mmol) in anhydrous diethyl ether at 0 °C under a N₂ atmosphere. The temperature was then slowly increased to room temperature and the reaction was monitored by GC-MS to check the formation of 5-methyl-chlordecol (CLDOH-Me). The reaction was quenched with a saturated solution of NH₄Cl (5 mL), and the aqueous phase was extracted with dichloromethane (100 ml). The organic phase was washed twice with 1 M NaOH (2 x 15 mL), dried over anhydrous magnesium sulfate and evaporated under vacuum. The crude compound was purified by silica gel column chromatography with dichloromethane/pentane (7:3) as eluent and then with dichloromethane/methanol (97:3) to give a white residue (6 mg, 6 %). HRMS (ESI-) *m/z* 500.7075, calculated for C₁₁Cl₁₀OH₃ [M-H]⁻: 500.7082 (Figure S3.6). ¹H NMR (CD₂Cl₂, 600 MHz) δ (ppm): 1.27 (s, 3H), 2.31 (s, 1H) (Figure S3.7). ¹³C RMN (CD₂Cl₂, 150 MHz) δ (ppm): 17.3, 75.4, 77.2, 81.8, 83.7, 86.0, 92.4 (Figure S3.8).

M5. Synthesis of 10-monohydro-5-methyl-chlordecol (-1Cl-CLDOH-Me) as a mixture of diastereoisomers

A solution of methylmagnesium bromide (CH₃MgBr, 120 μ L, 360 μ mol, 3 M in diethyl ether) was added dropwise to a stirred 10-mL solution of 10-monohydroCLD (A1, 22 mg, 46 μ mol) in anhydrous diethyl ether at 0 °C under a N₂ atmosphere. The temperature was then slowly raised to room temperature, and the reaction was monitored by GC-MS to check the formation of 10-monohydro-5-methyl-chlordecol (-1Cl-CLDOH-Me) until consumption of A1. The reaction was then quenched with a saturated solution of NH₄Cl (5 mL). The aqueous phase was extracted with dichloromethane (50 ml) and then washed twice with 1 M NaOH (2 x 15 mL). The organic phase was dried over anhydrous magnesium sulfate, and evaporated under vacuum. The crude compound was purified by silica gel column chromatography with dichloromethane/pentane (7:3) as eluent and then with dichloromethane/methanol (97:3) to give white residue (4 mg, 18 %). HRMS (ESI-): *m/z* 466.7467, calculated for C₁₁Cl₉OH₄ [M-H]⁻: 466.7464 (Figure S3.11). ¹H NMR (CD₂Cl₂, 600 MHz) δ (ppm): 1.24 (s, 3H), 2.28 (s, 1H), 2.29 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 4.34 (s, 1H) (Figure S3.12). ¹³C RMN (CD₂Cl₂, 150 MHz) δ (ppm): 16.7, 16.9, 67.7, 67.9, 74.0, 75.6, 75.7, 77.4, 79.16, 79.23, 82.16, 82.20, 85.9, 86.1 (Figure S3.13).

M6. Synthesis of 10-monohydrochlordecol (-1Cl-CLDOH) as a mixture of diastereoisomers

4 mg (105 μ mol) of sodium borohydride was added to a 5-mL 2-propanolic solution of 10-monohydroCLD (A1, 10 mg, 21 μ mol). The solution was stirred 3 hours under N_2 at room temperature. 2-propanol was then evaporated under reduced pressure. 5 mL of 5 % H_2SO_4 was added. The acidic solution was extracted with pentane (3 x 100 mL) and the organic extract was washed twice with 0.5 M NaOH (2 x 15 mL). The pentane phase was dried over anhydrous $MgSO_4$ and then evaporated to dryness to give a white residue (9.5 mg, 98 %). TLC Rf 0.32 (DCM/pentane, 7:3). HRMS (ESI-): m/z 452.7322, calculated for $C_{10}Cl_9OH_2$ [M-H]⁻: 452.7308 (Figure S3.16). 1H NMR (CD_2Cl_2 , 600 MHz) δ (ppm): 2.75 (s, 1H), 2.77 (s, 1H), 4.25 (s, 1H), 4.26 (s, 1H), 4.33 (s, 1H), 4.34 (s, 1H) (Figure S3.17). ^{13}C NMR (CD_2Cl_2 , 150 MHz) δ (ppm): 68.1, 68.4, 73.8, 75.3, 76.3, 78.0, 79.1, 79.2, 79.86, 79.91, 81.8, 82.1 (Figure S3.18).

M7. Estimation of the purity of A1, B1, -1Cl-CLDOH and -1Cl-CLDOH-Me with NMR instrument

The purity of A1, B1, CLDOH, -1Cl-CLDOH and -1Cl-CLDOH-Me were estimated through nuclear magnetic resonance spectroscopy (1H NMR). Each standard was dissolved in 500 μ L of chloroform-d ($CDCl_3$). 100 μ L of a solution of 2 μ L of acetonitrile (standard) in 500 μ L of chloroform-d was then added as internal standard. Purity was estimated as previously described (Martin et al., 2023).

M8. Estimation of the purity of F1 and CLDOH with NMR instrument

The purity of F1 and CLDOH were estimated through 1H NMR analysis. Each standard was diluted in 600 μ L of dichloromethane- d_2 (CD_2Cl_2). 0.8 μ L of chloroform (standard) was then added as internal standard. Purity was estimated as previously described (Martin et al., 2023).

M9. Estimation of the purity of A2, CLDOH, CLDOH-d and CLDOH-Me with GC-FID instrument

The purity of 8-monohydroCLD (A2), CLDOH, CLDOH-d and CLDOH-Me were estimated through GC-FID analysis conducted on a Thermo Scientific Trace 1300 connected to a flame-ionization detector set at 320 $^{\circ}C$ (other parameters: air flow: 400 mL.min⁻¹, masking gas: 18 mL.min⁻¹, hydrogen flow: 15 mL.min⁻¹). The instrument was equipped with a non-polar 20 m x 0.15 mm x 0.15 μ m TG-5Sil column (Thermo Fisher Scientific). The temperature program started at 150 $^{\circ}C$ for 0.05 min, increased at a linear rate of 23 $^{\circ}C$.min⁻¹ until 290 $^{\circ}C$ and remained 0.6 min at 290 $^{\circ}C$. The S/SL injector was set at 200 $^{\circ}C$. The injection volume was 3 μ L. The FID detector is sensitive to the carbon content of molecules and the ease with which they can be burned, implying that two molecules with similar structures and bearing similar chemical functions are expected to give similar response in GC-FID. Thus, we assumed that compounds from the same family, eg CLD, A1 and A2 would give a highly similar response in GC-FID. A1 and CLD were injected at two levels of concentrations to determine A1 purity. The same procedure was carried out to determine the purity of A2 using A1 as reference. The purity of CLDOH and CLDOH-d were estimated in the same manner using the reference CLDOH from Azur Isotopes (purity

98 %). Finally, the purity of CLDOH-Me was estimated by comparison with the response of -1Cl-CLDOH-Me.

M10. Cleaning method of the SPME fiber

For the regeneration of the fiber, an ultrafast method was used for the analysis of inter-blank samples. For that, SPME fiber was incubated for 0.5 min in H₂O:MeOH (50:50) at 80 °C and desorbed at 300 °C for 5 min in S/SL injector. The fiber was then washed in IPA for 0.5 min and reconditioned at 340 °C for 0.5 min in PTV injector. The oven was set to 280 °C and no mass spectra were recorded. The duration of the ultrafast method was 9.2 min.

M11. Liquid-liquid extraction procedure applied to Guadeloupe samples

LLE procedure was only applied on water samples from Guadeloupe due to insufficient volumes for Martinique water samples. Protocol was adapted from Chevallier and colleagues (2019). Briefly, 40 µL of a solution of internal standards at 7.5 mg.L⁻¹ in acetone (¹³C₆-HCB, ¹³C₁₀-CLD, CLDOH-d, PCB 138) were added to the 400-mL water sample. After one-hour stirring at room temperature, the aqueous sample was acidified to pH 3 using HCl (6 M). Six successive extractions with 150 mL of dichloromethane were performed. The combined organic phases were evaporated under reduced pressure. The residue was then dissolved in 400 µL of a hexane:acetone mixture (85/15, v/v) and divided in three portions including 150 µL for direct GC-MS analysis and 150 µL that was dried and kept at -20 °C for LC-HRMS analysis. GC-MS analysis allowed the detection of PCB, HCB and HCHs, aldrin and dieldrin, family B (B1, B2 and B3/B4), family A (A1, A2, dihydroCLDs), CLD, CLDOH, mirex and F1 while LC-HRMS enabled the detection of family A (A1, A2, dihydroCLDs), CLD, CLDOH and -1Cl-CLDOH.

M12. GC-MS and LC-HRMS parameters applied for the analysis of LLE extracts

GC-MS and LC-HRMS parameters were described elsewhere (Martin et al., 2023). For GC-MS, single ion monitoring (SIM) analysis was carried out in split mode with a ratio of 1:5 on three successive replicated injections. Two ions were monitored for each compound (quantifying and qualifying ion) (Table S5). In addition for GC-MS, full scan (FS) analysis was carried out in splitless mode over a mass range of m/z 160-560. For LC-HRMS, dry extract was re-dissolved in 250 µL of NH₄OAc buffer (10 mM, pH 7 adjusted with NH₄OH 1M): MeCN (20/80, v/v) and filtered on 0.22-µm filter (Millex® -GV, Merck) before being analyzed three successful times. Separation was performed on Kinetex C18 column (100 mm x 2.1 mm, 1.7 µm) (Phenomenex) and acquisition was made using a LTQ-Orbitrap Elite Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific) over a mass range of m/z 100-700 with a resolution of 30,000. Mobile phases were NH₄OAc buffer (10 mM; pH 7 adjusted with NH₄OH 1 M) and MeCN. Two ions were extracted from the total ion chromatogram (TIC) (quantifying and qualifying ions) (Tableau S3.6).

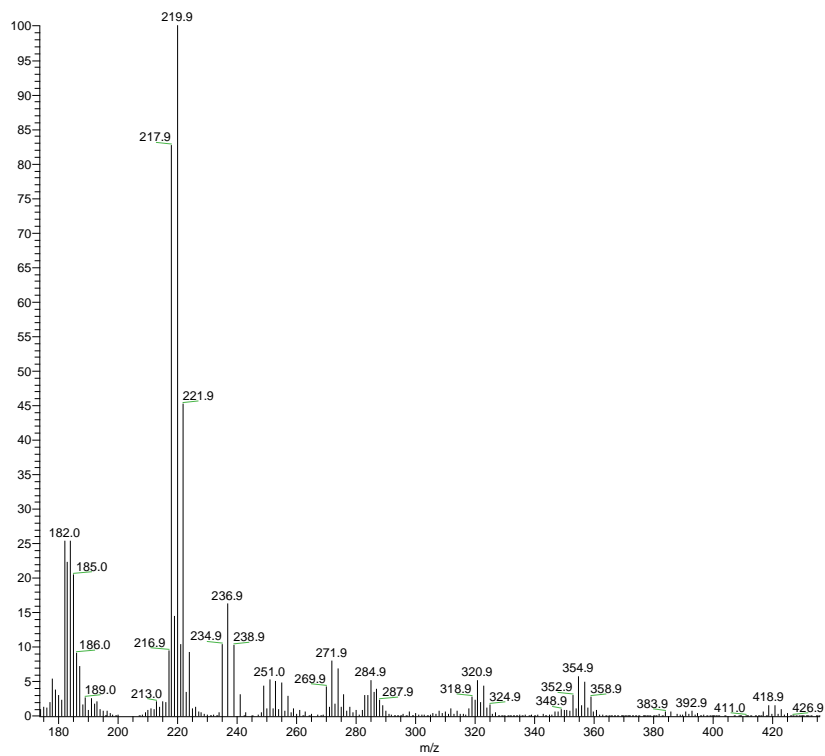
2. Supporting text

Details about the development of SPME procedure (see Tableau S3.2 for an additional overview):

1. Extraction efficiencies for CLD, CLDOH, A1, B1 and F1 were tested with five commercial fibers: two in polydimethylsiloxane (PDMS, thickness: 7 μm and 30 μm), one in PDMS coupled to divinylbenzene (thickness: 65 μm , PDMS-DVB), one in acrylate (thickness: 85 μm) and one in carbon (thickness: 95 μm).
2. With the selected fiber PDMS-DVB, different incubation temperatures were studied: 40 °C, 60 °C and 80 °C.
3. Several exposure times of the PDMS-DVB fiber were tested at 80 °C: 10 min, 20 min and 40 min.
4. Several temperatures and times for fiber desorption were tested: 220 °C, 250 °C and 270 °C for 5 min, 15 min and 25 min.
5. Influence of NaCl salts was studied for 0 %, 5 % and 10 % (w/w) of NaCl.

3. Supporting figures

a)



b)

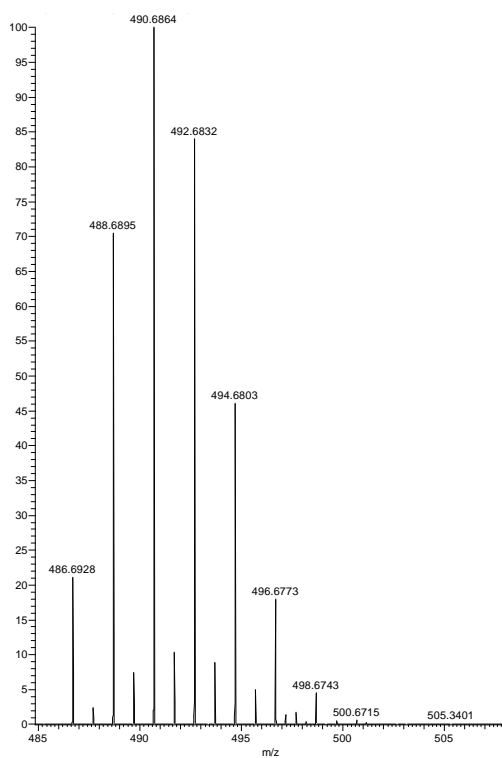


Figure S3.1. Characterization of CLDOH by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI(+)-MS and b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS

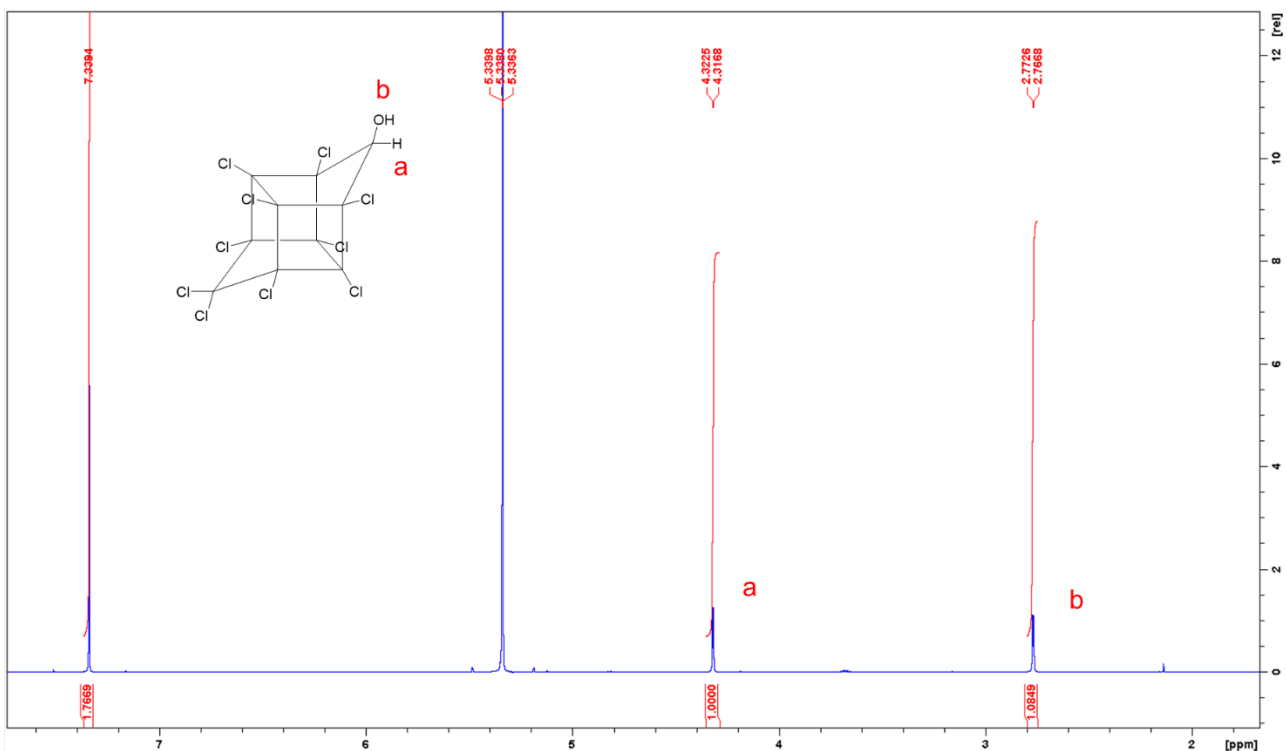


Figure S3.2. ¹H-NMR spectrum of CLDOH in CD₂Cl₂ (600 MHz). CHCl₃ has been spiked onto the NMR sample to perform the purity estimation according to Supporting Methods M8

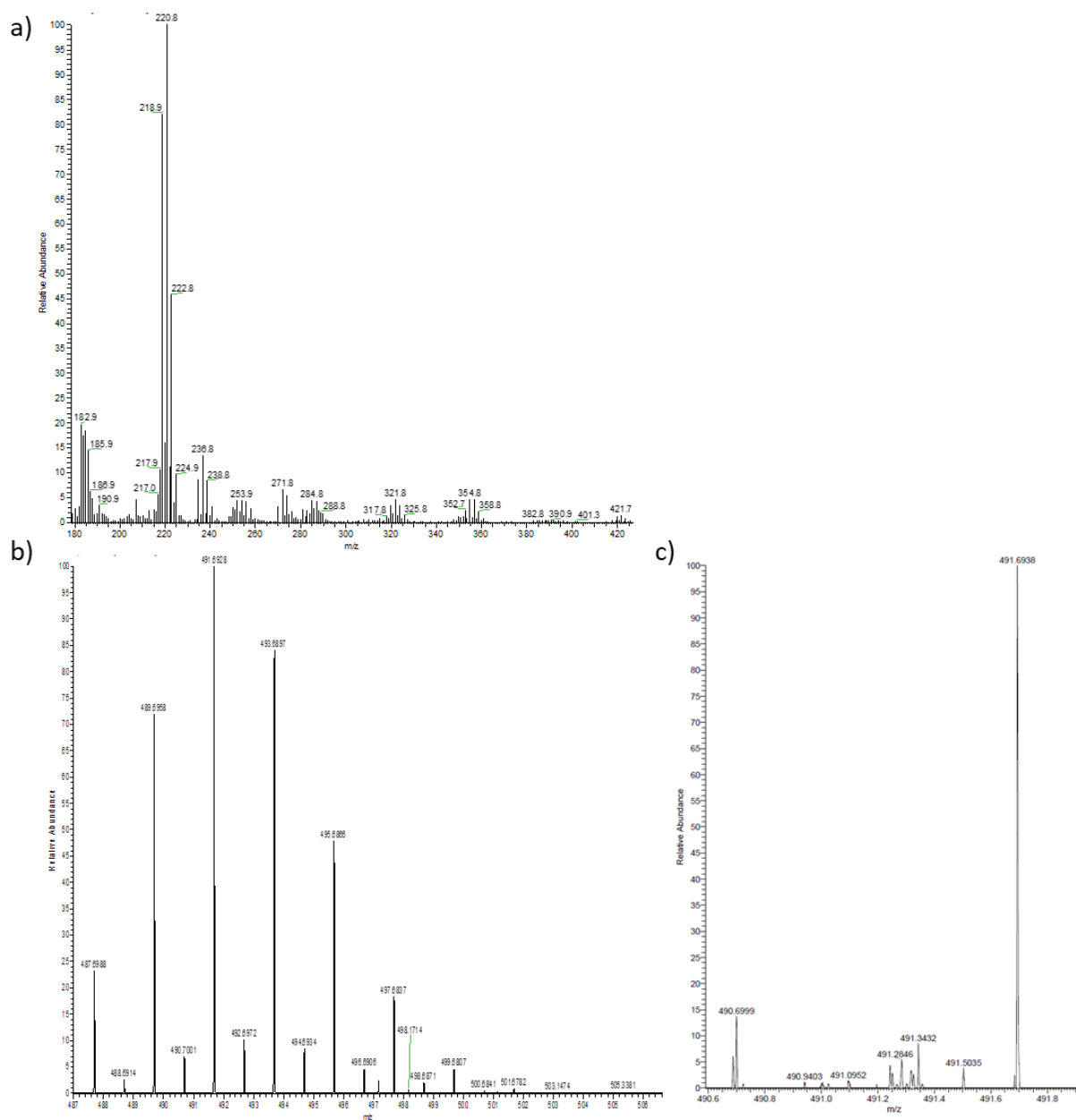


Figure S3.3. Characterization of CLDOH-d by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI(+)-MS, b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS and c) extract mass spectrum from infusion in ESI(-)-HRMS

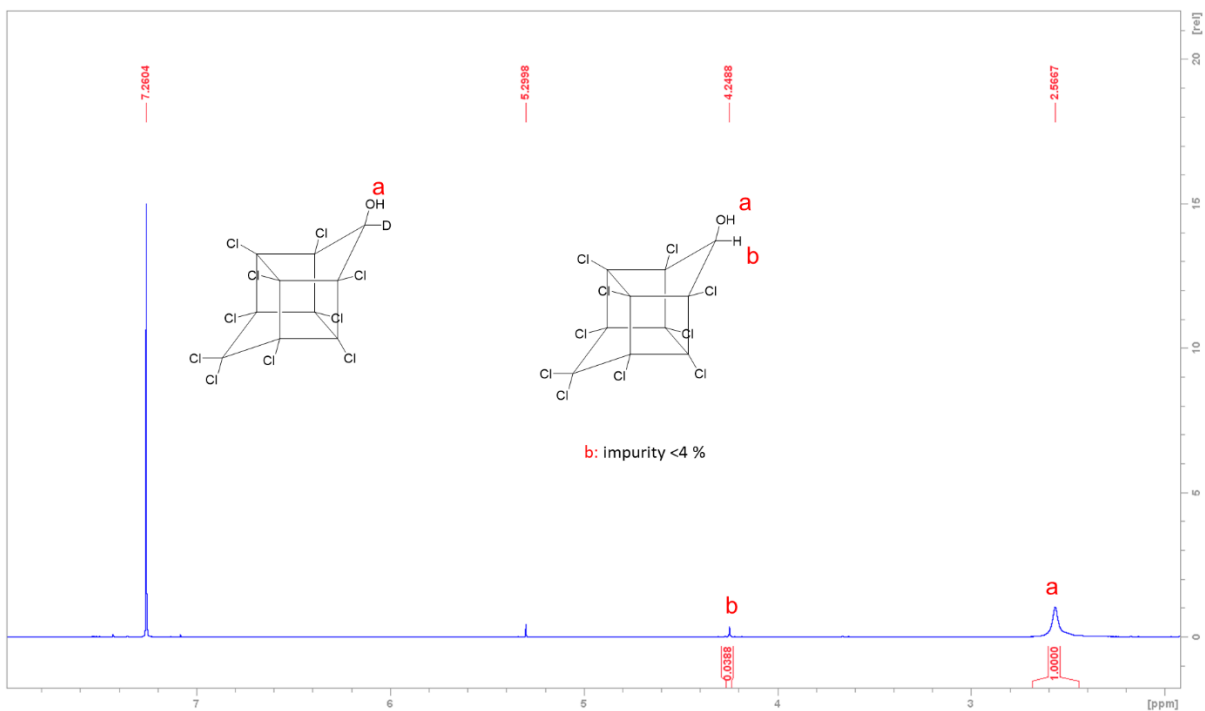


Figure S3.4. ^1H -NMR spectrum of CLDOH-d in CDCl_3 (600 MHz).

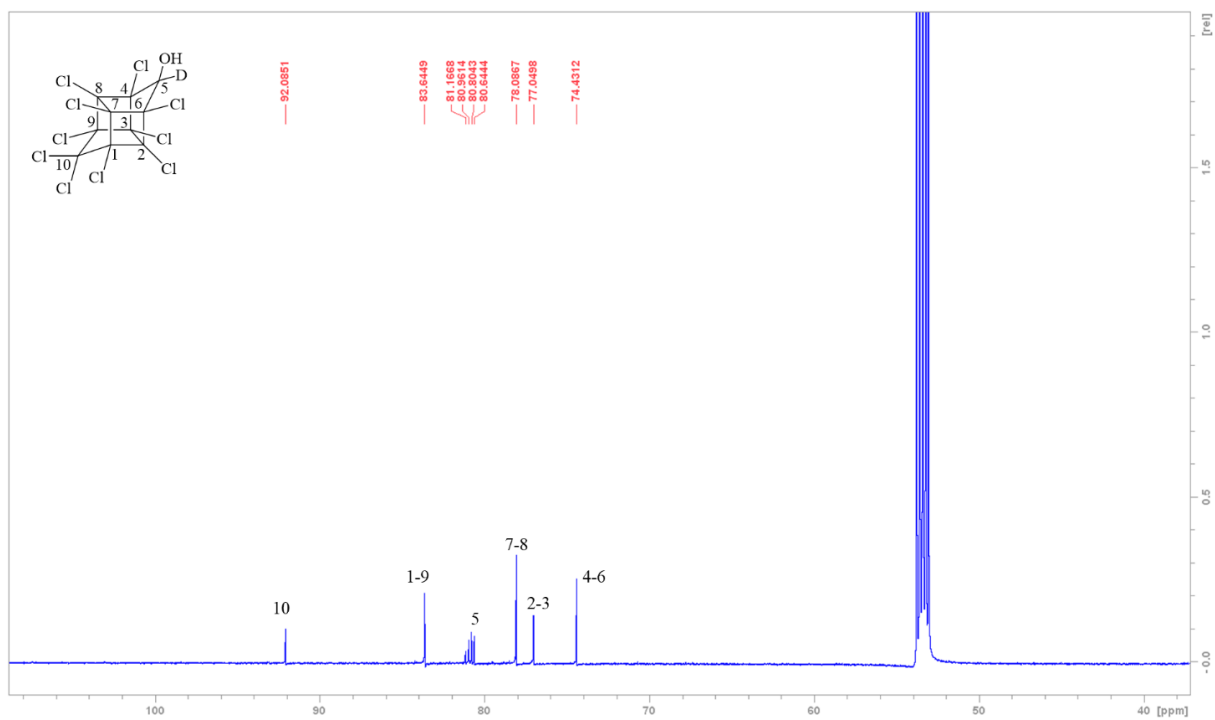


Figure S3.5. ^{13}C -NMR spectrum of CLDOH-d in CD_2Cl_2 (150 MHz)

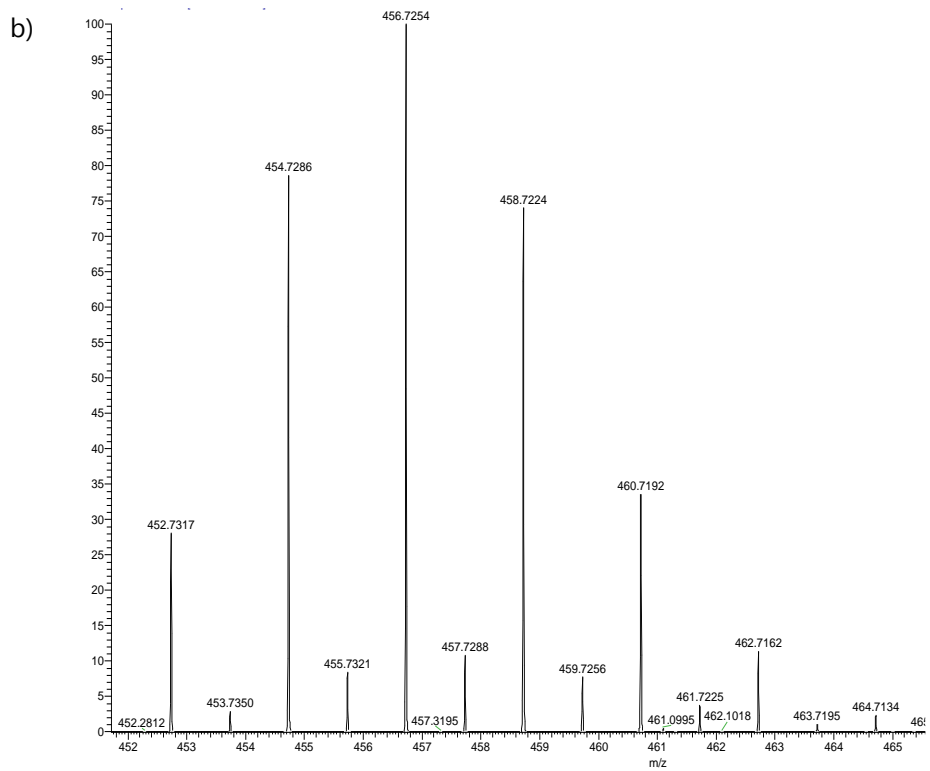
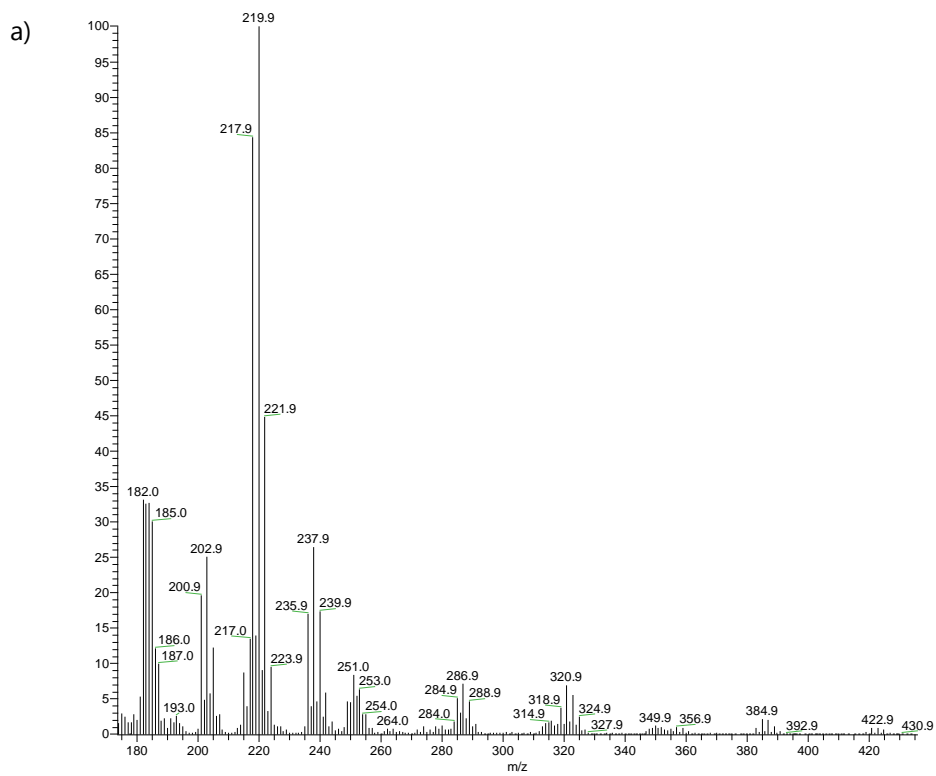


Figure S3.6. Characterization of -1Cl-CLDOH by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI-MS (positive mode) and b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS

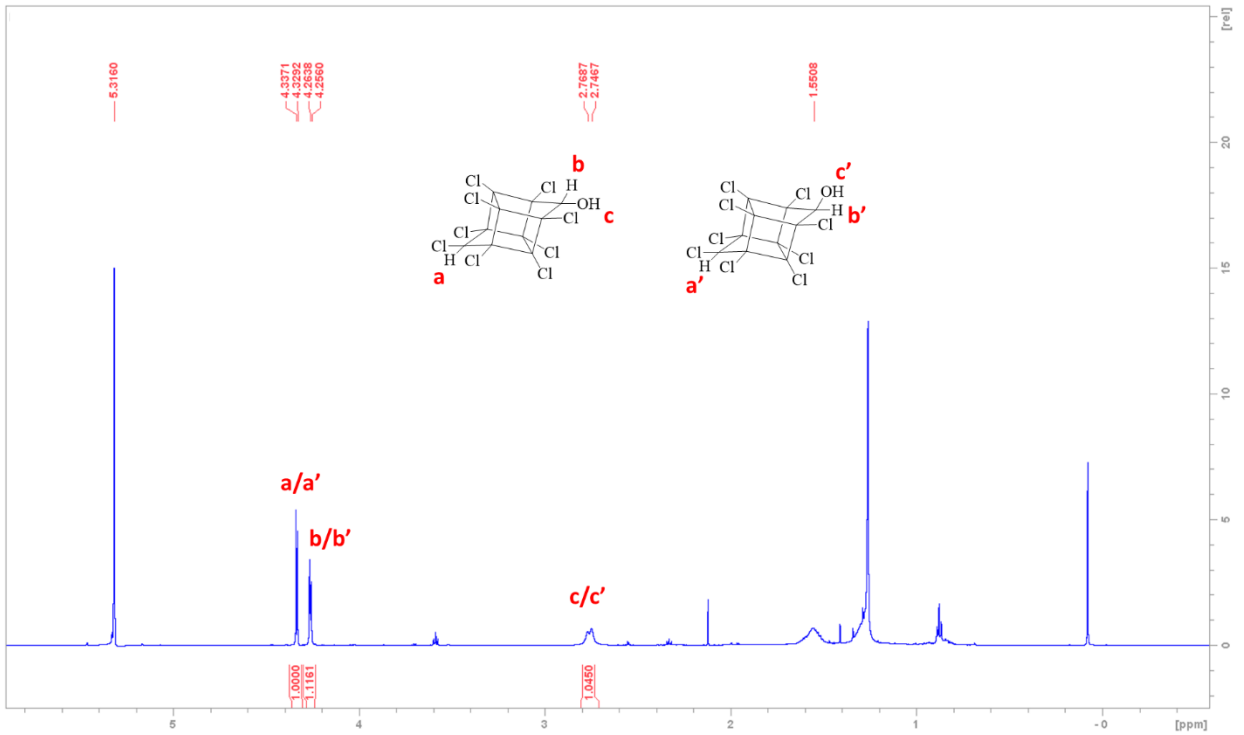


Figure S3.7. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of -1Cl-CLDOH in CD_2Cl_2 (600 MHz)

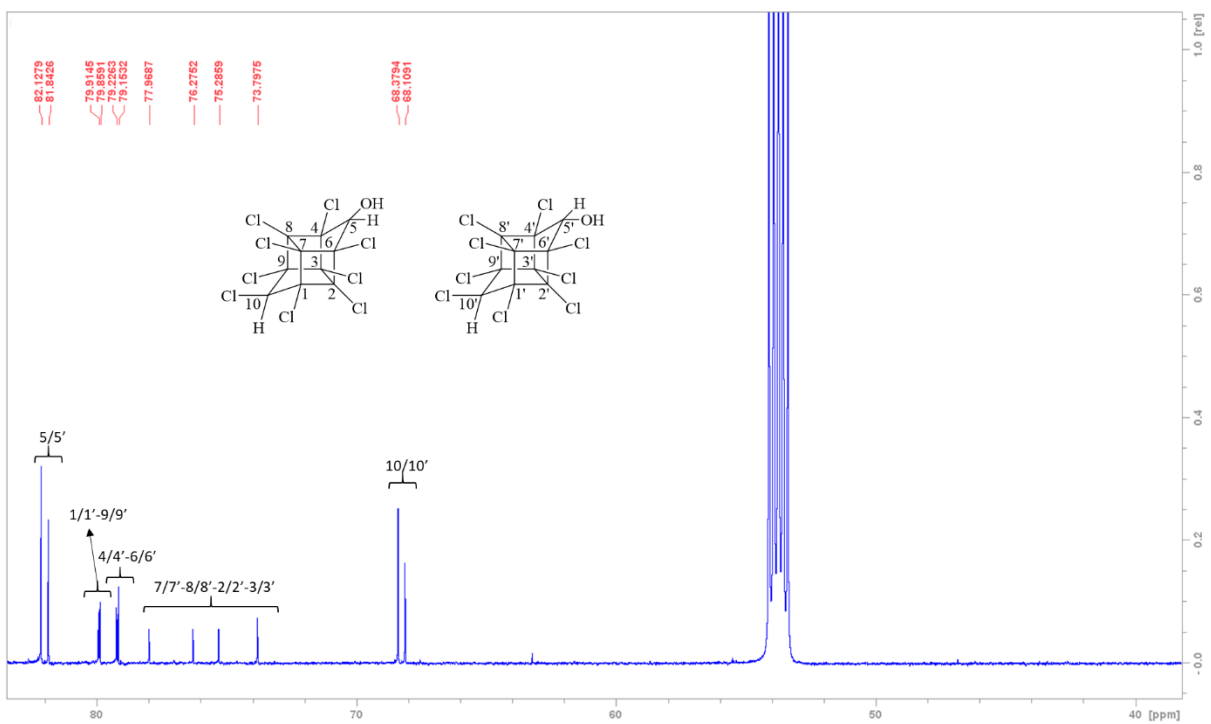


Figure S3.8. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of -1Cl-CLDOH in CD_2Cl_2 (150 MHz)

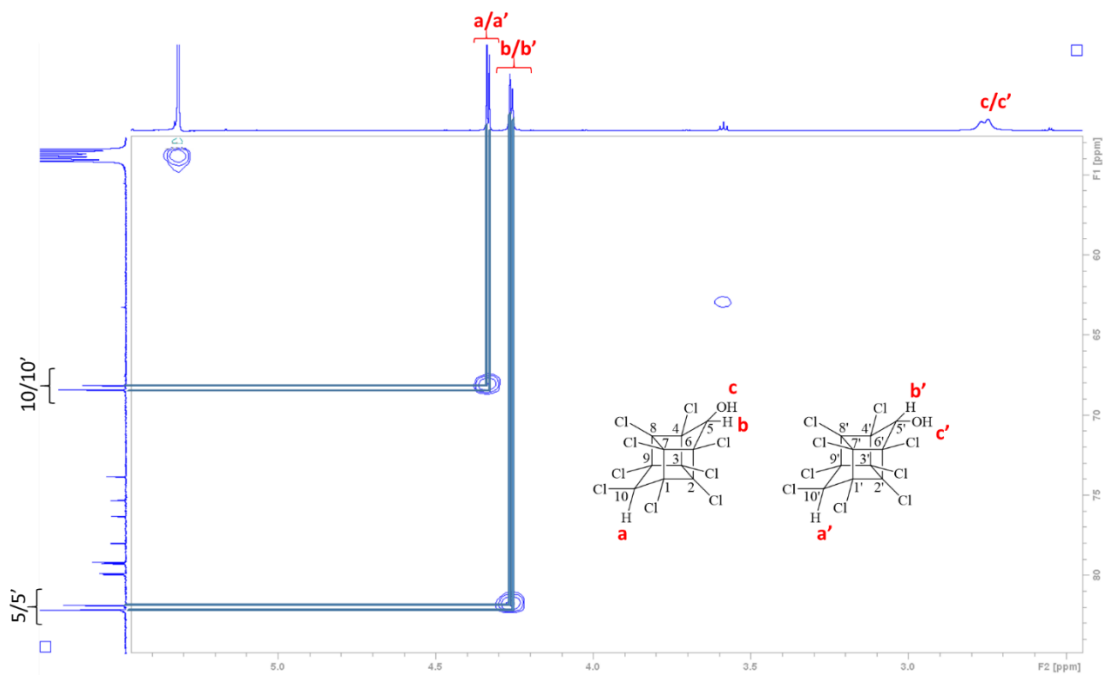


Figure S3.9. HSQC spectrum of -1Cl-CLDOH in CD_2Cl_2

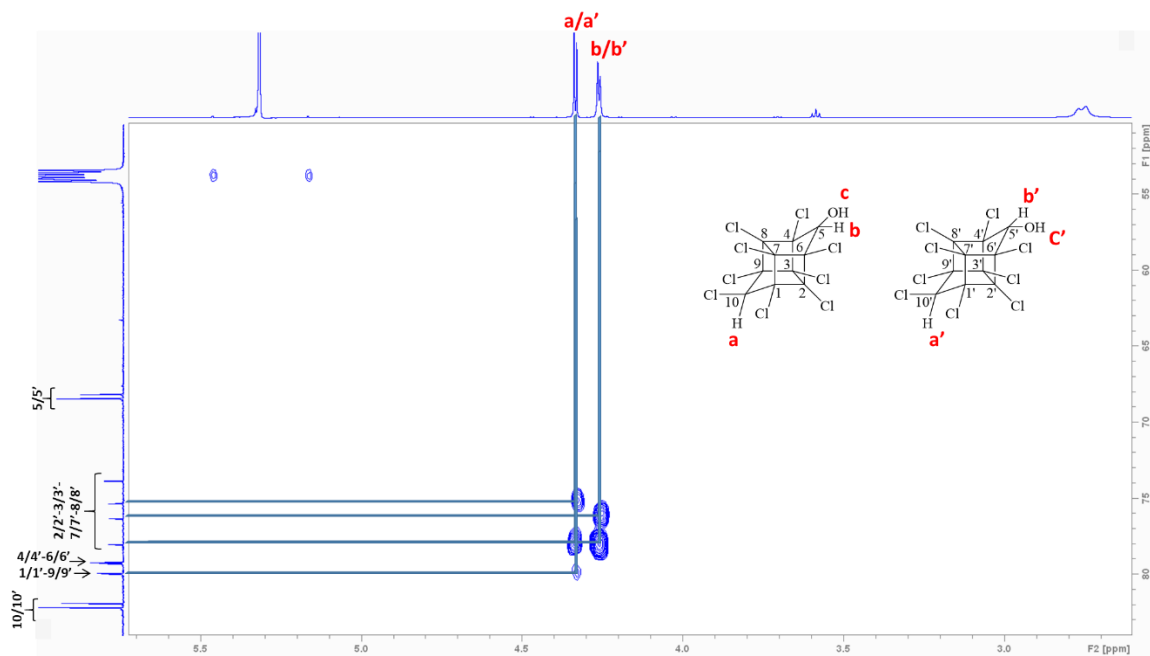


Figure S3.10. HMBC spectrum of -1Cl-CLDOH in CD_2Cl_2

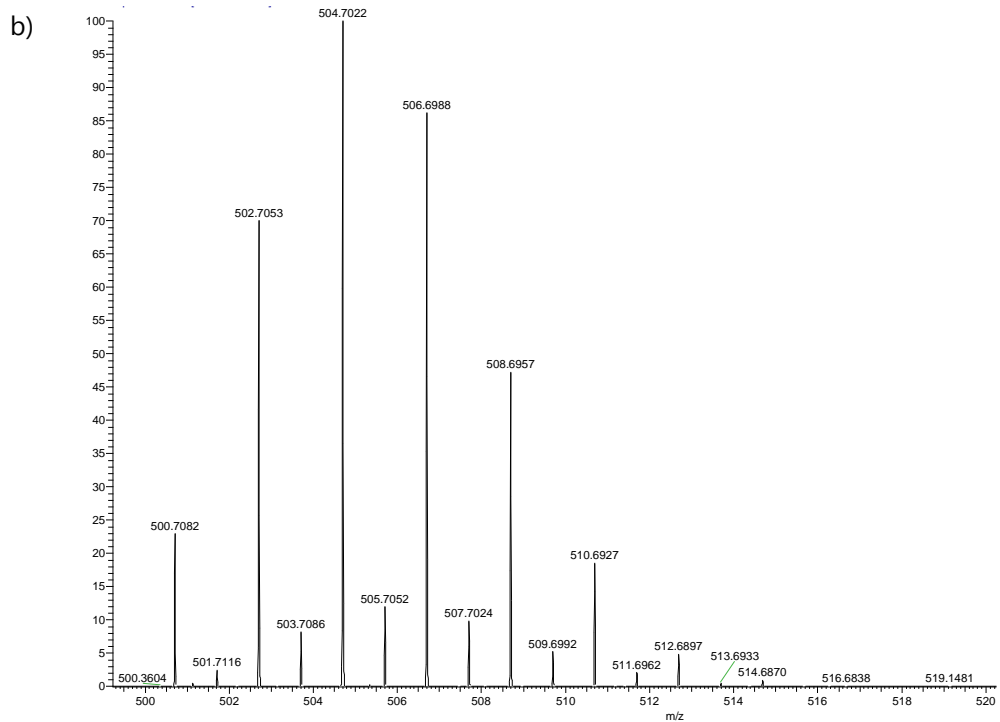
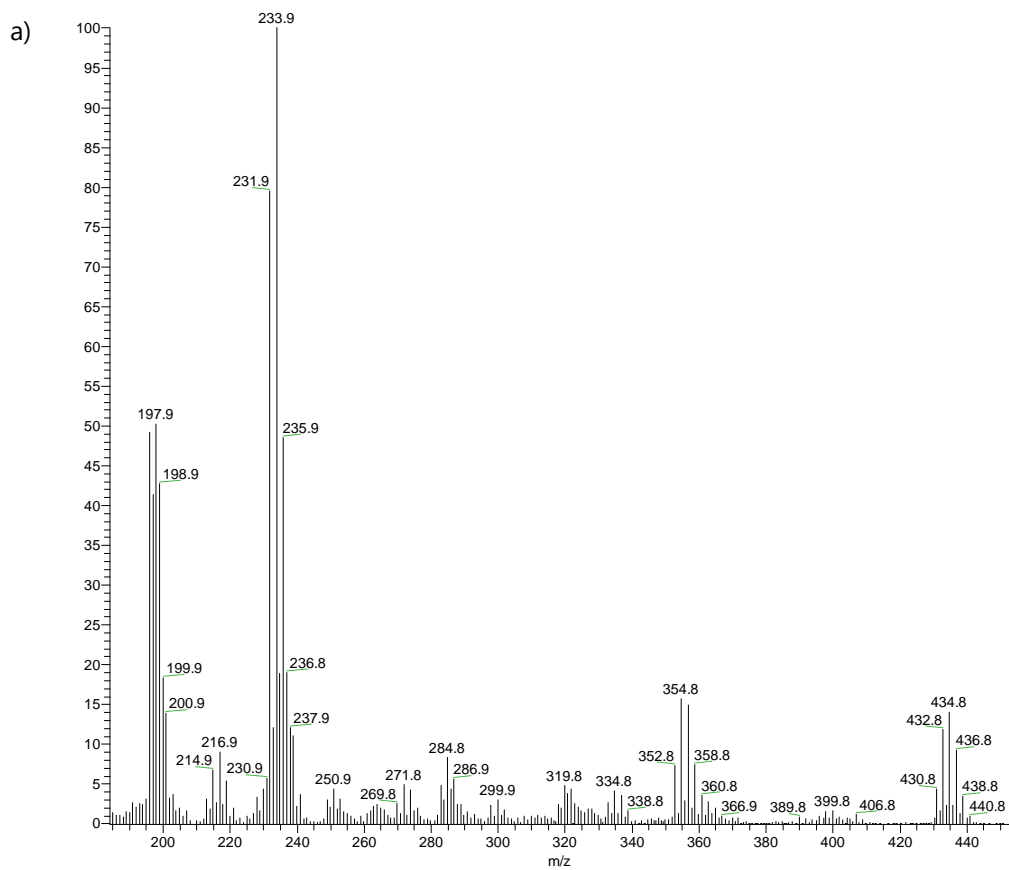


Figure S3.11. Characterization of CLDOH-Me by mass spectrometry: a) mass spectrum from GC-EI-MS (positive mode) and b) extracted mass spectrum from LC-ESI(-)-HRMS

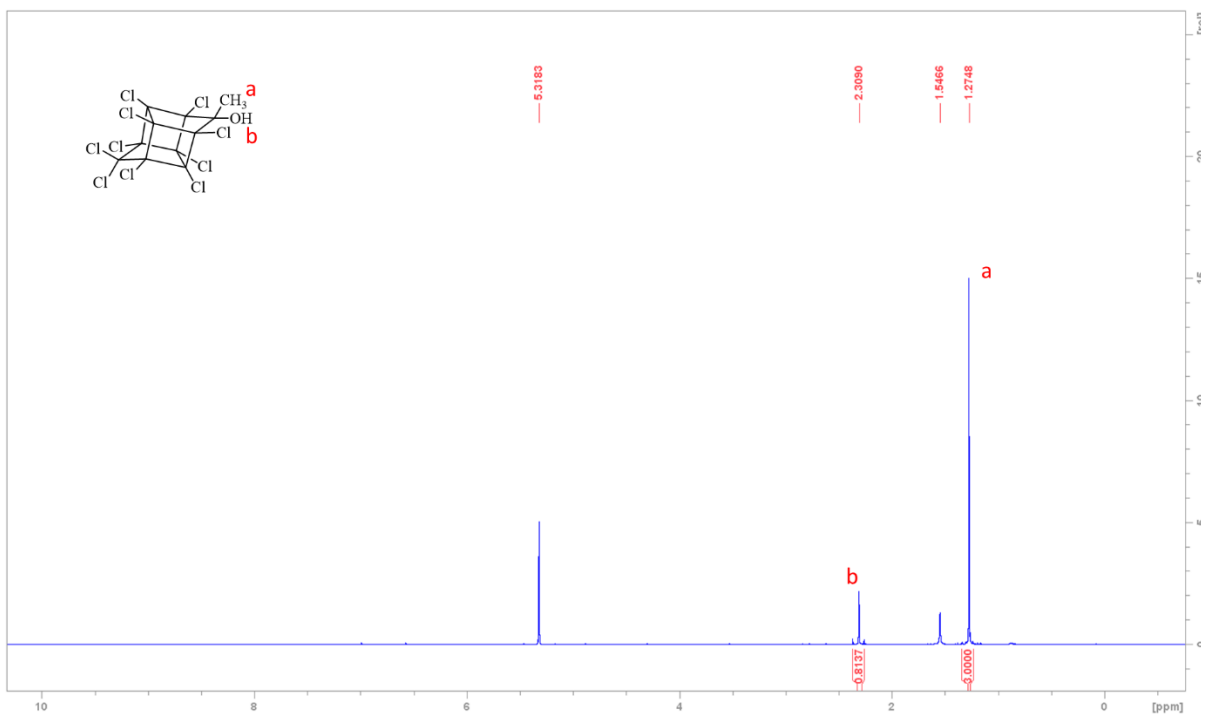


Figure S3.12. ¹H-NMR spectrum of CLDOH-Me in CD₂Cl₂ (600 MHz).

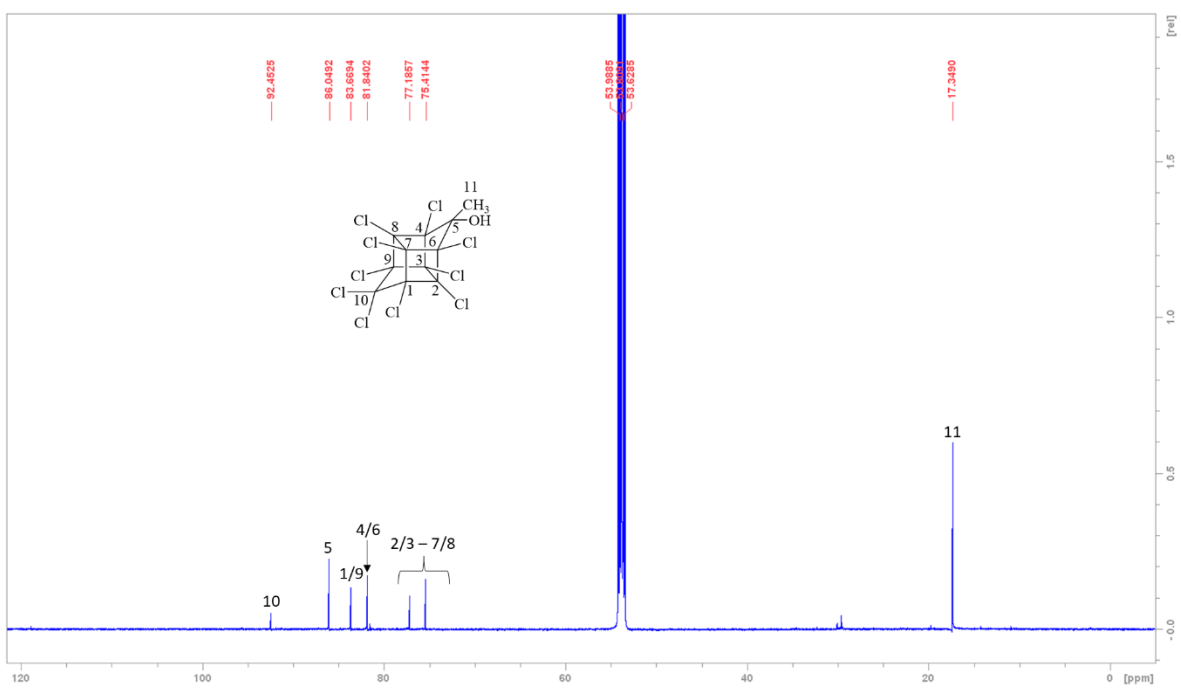


Figure S3.13. ¹³C-NMR spectrum of CLDOH-Me in CD₂Cl₂ (150 MHz)

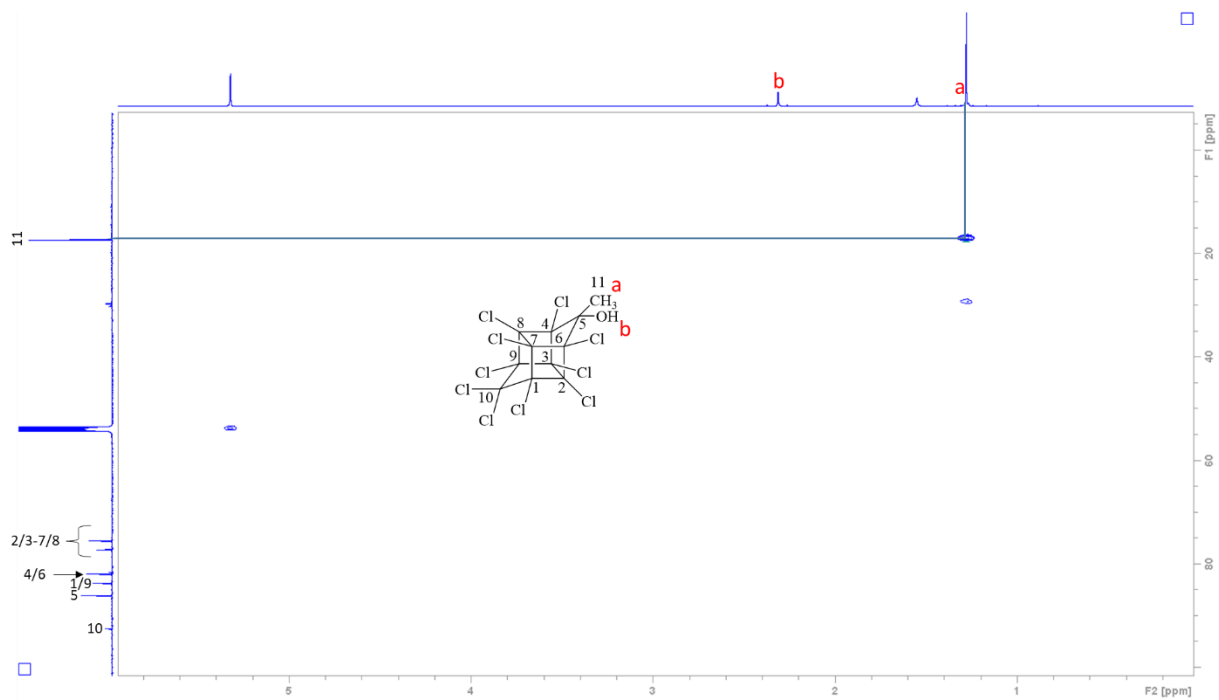


Figure S3.14. HSQC spectrum of CLDOH-Me in CD_2Cl_2

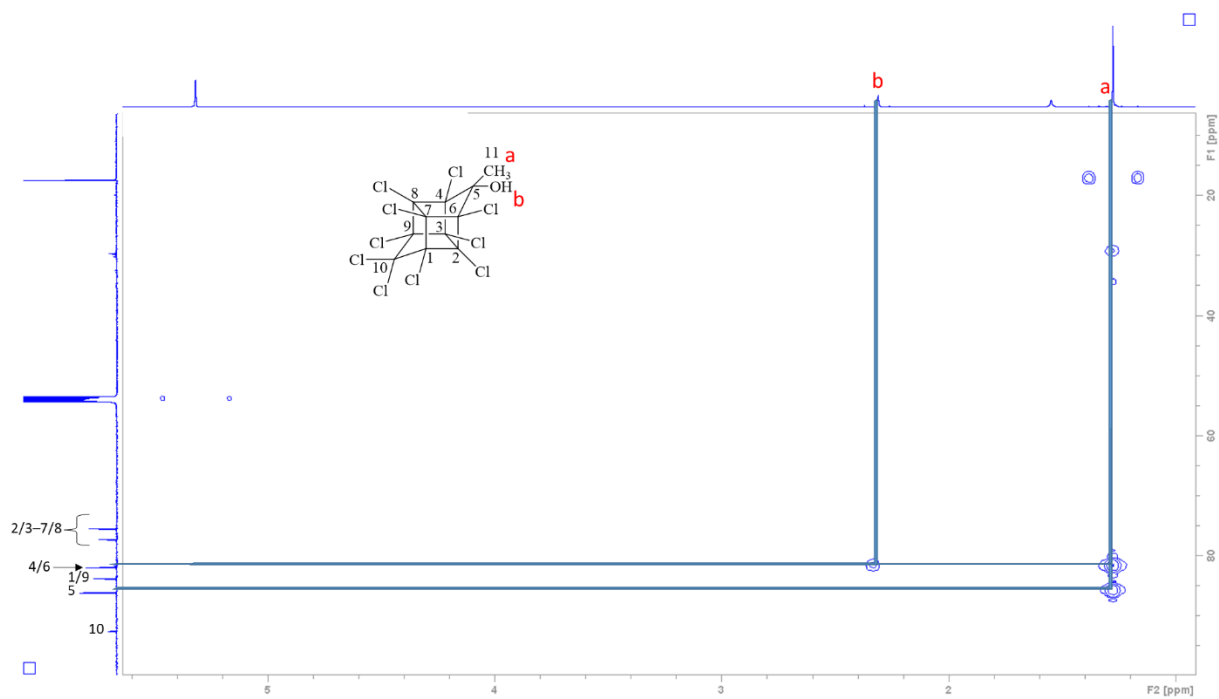


Figure S3.15. HMBC spectrum of CLDOH-Me in CD_2Cl_2

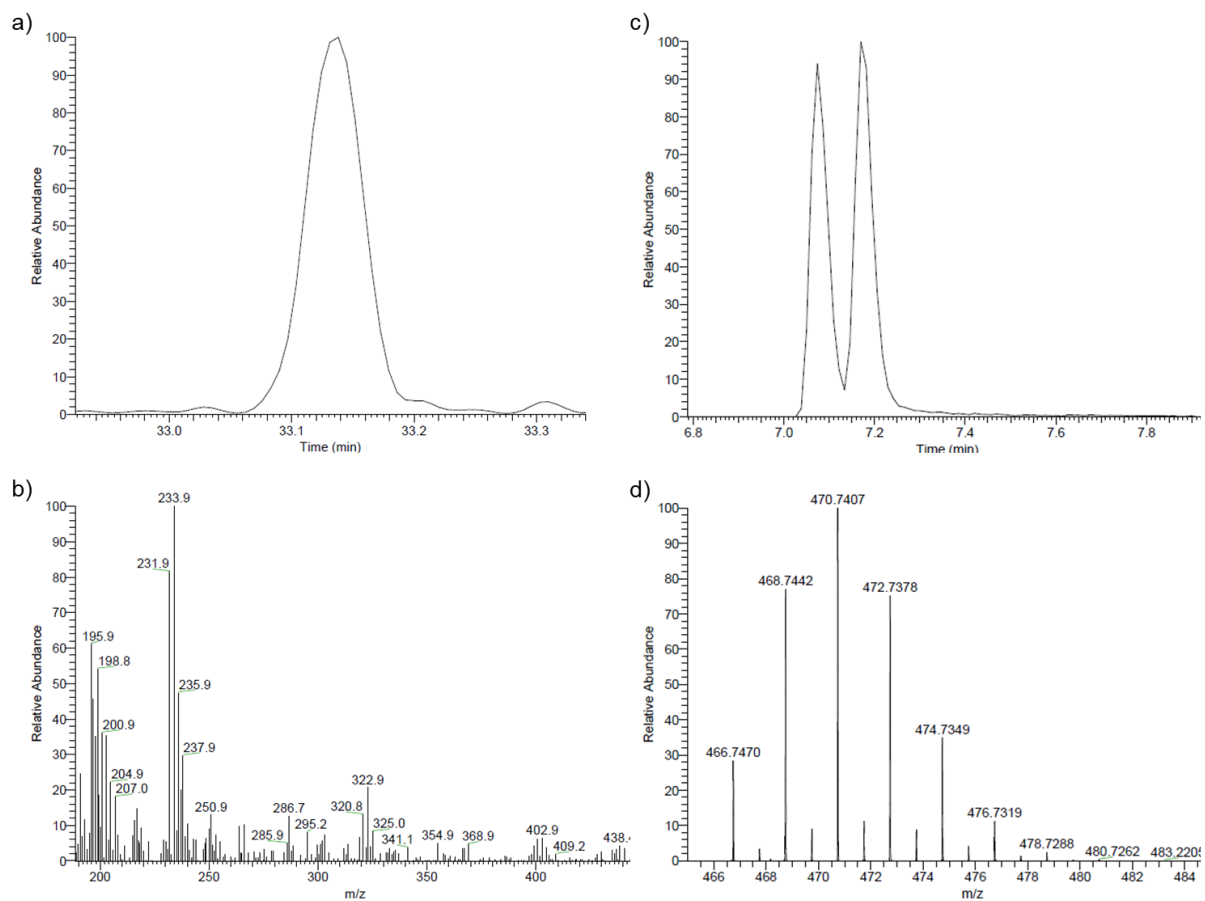


Figure S3.16. Characterization of -1CI-CLDOH-Me through chromatography coupled to mass spectrometry: a) zoom on the GC-EI(+)-MS chromatogram showing a single peak and b) its associated extracted mass spectrum and c) zoom on the LC-ESI(-)-HRMS chromatogram showing a dual peak reflecting the two diastereoisomers and d) the associated quasi-molecular ion pattern in HRMS

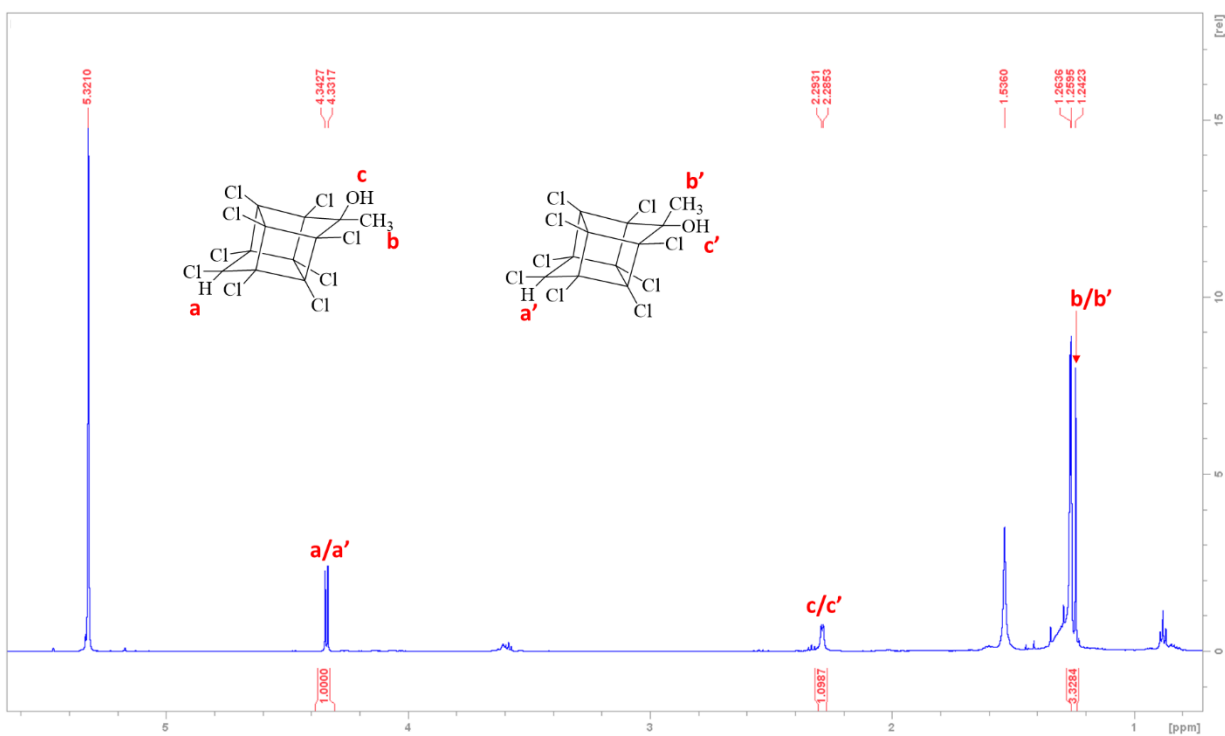


Figure S3.17. $^1\text{H-NMR}$ spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD_2Cl_2 (600 MHz)

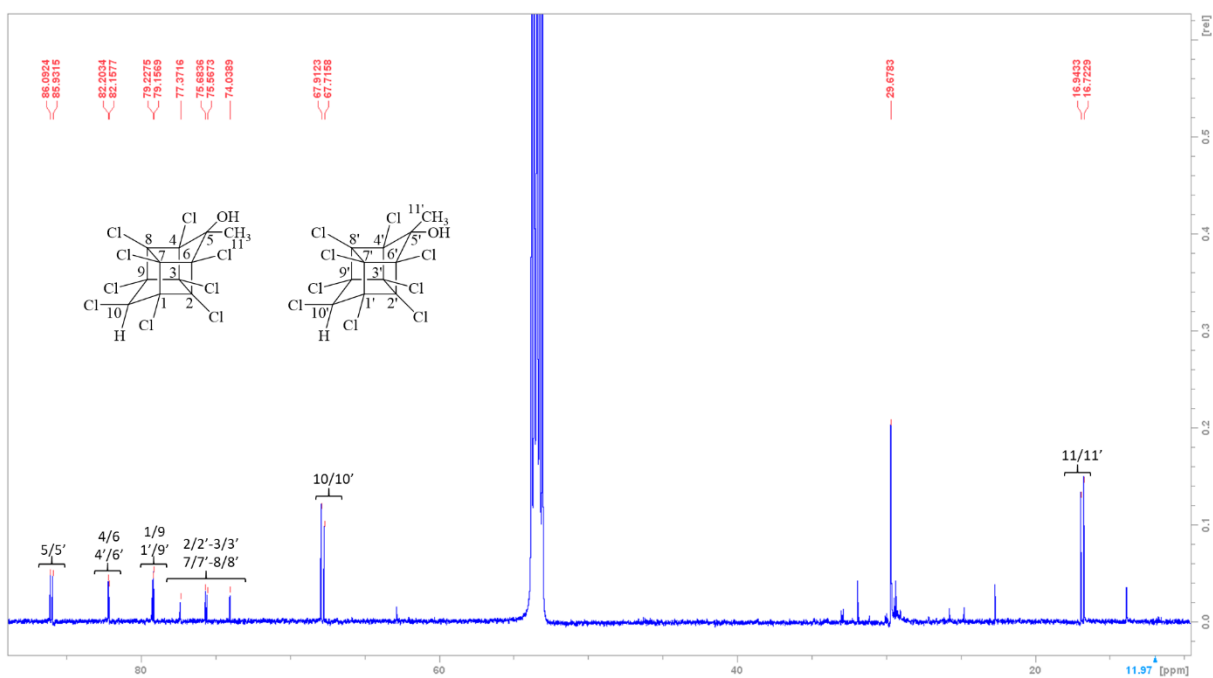


Figure S3.18. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD_2Cl_2 (150 MHz)

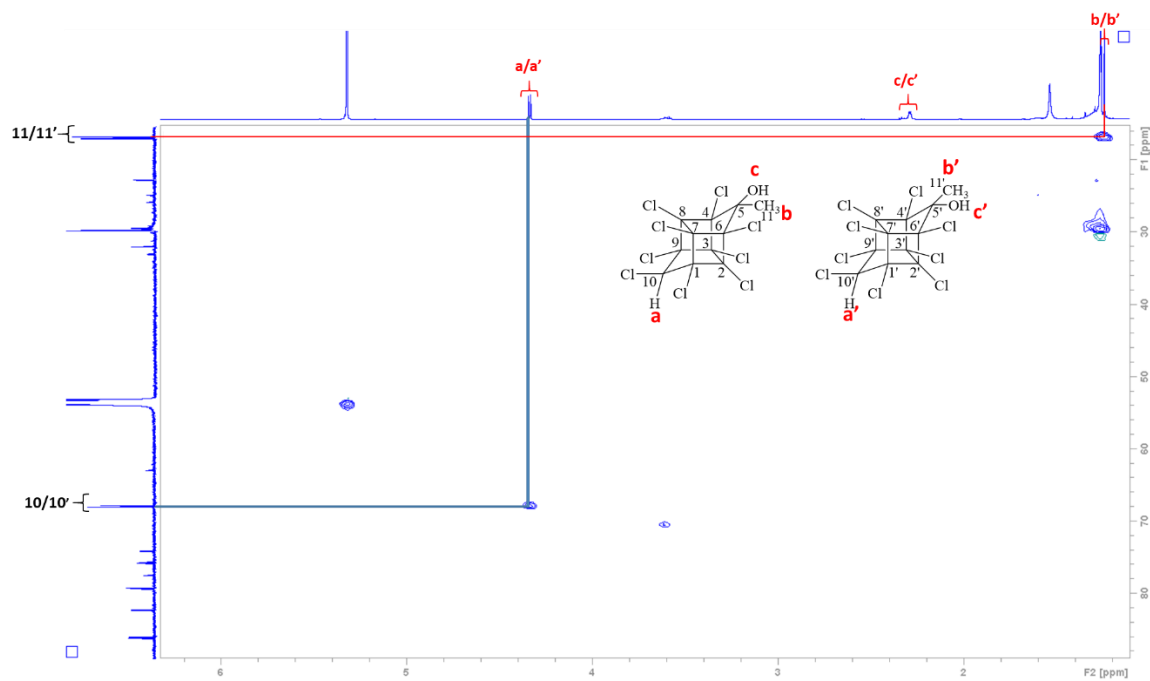


Figure S3.19. HSQC spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD₂Cl₂

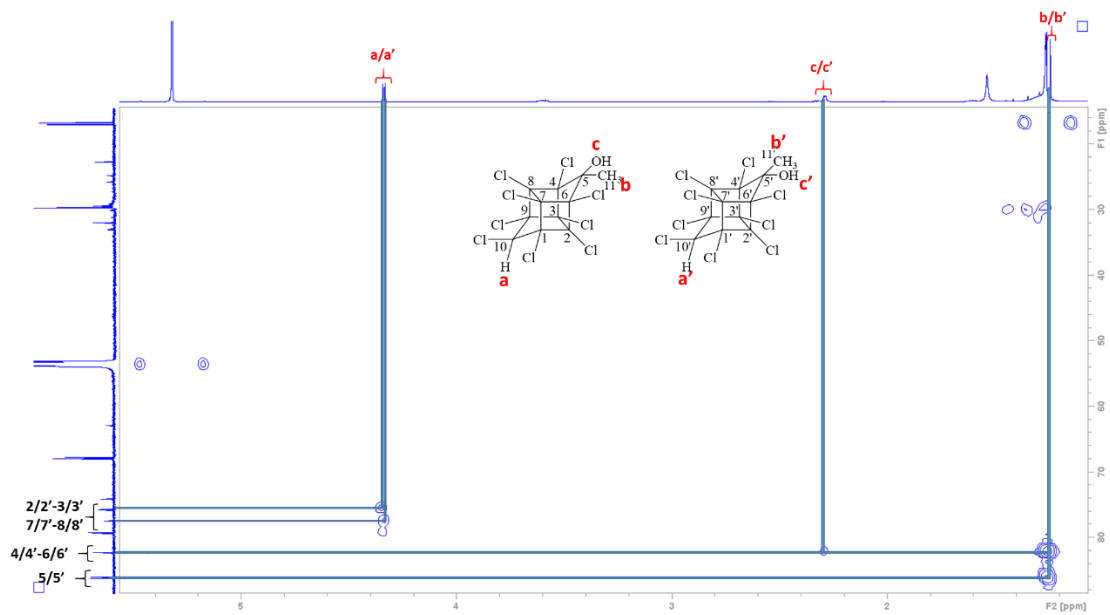


Figure S3.20. HMBC spectrum of -1Cl-CLDOH-Me in CD₂Cl₂

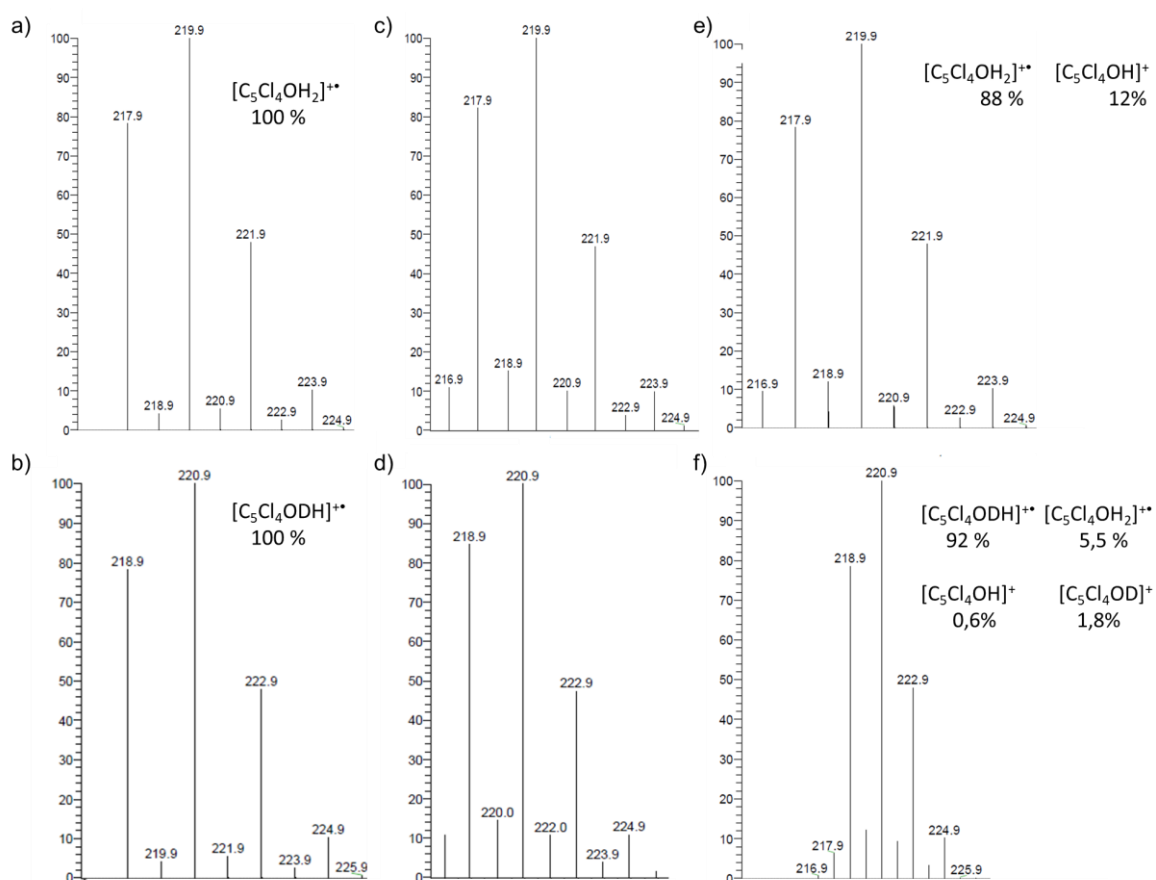


Figure S3.21. Isotopic patterns of the fragments of CLDOH and CLDOH-d: a) simulated isotopic pattern for $[C_5Cl_4OH_2]^{++}$ (for CLDOH), b) simulated isotopic pattern for $[C_5Cl_4ODH]^{++}$ (for CLDOH-d), c) extract of experimental mass spectrum obtained in GC-EI(+)-MS for CLDOH, d) extract of experimental mass spectrum obtained in GC-EI(+)-MS for CLDOH-d, e) simulated isotopic pattern modelling the experimental isotopic pattern observed for CLDOH and f) simulated isotopic pattern modelling the experimental isotopic pattern observed for CLDOH-d

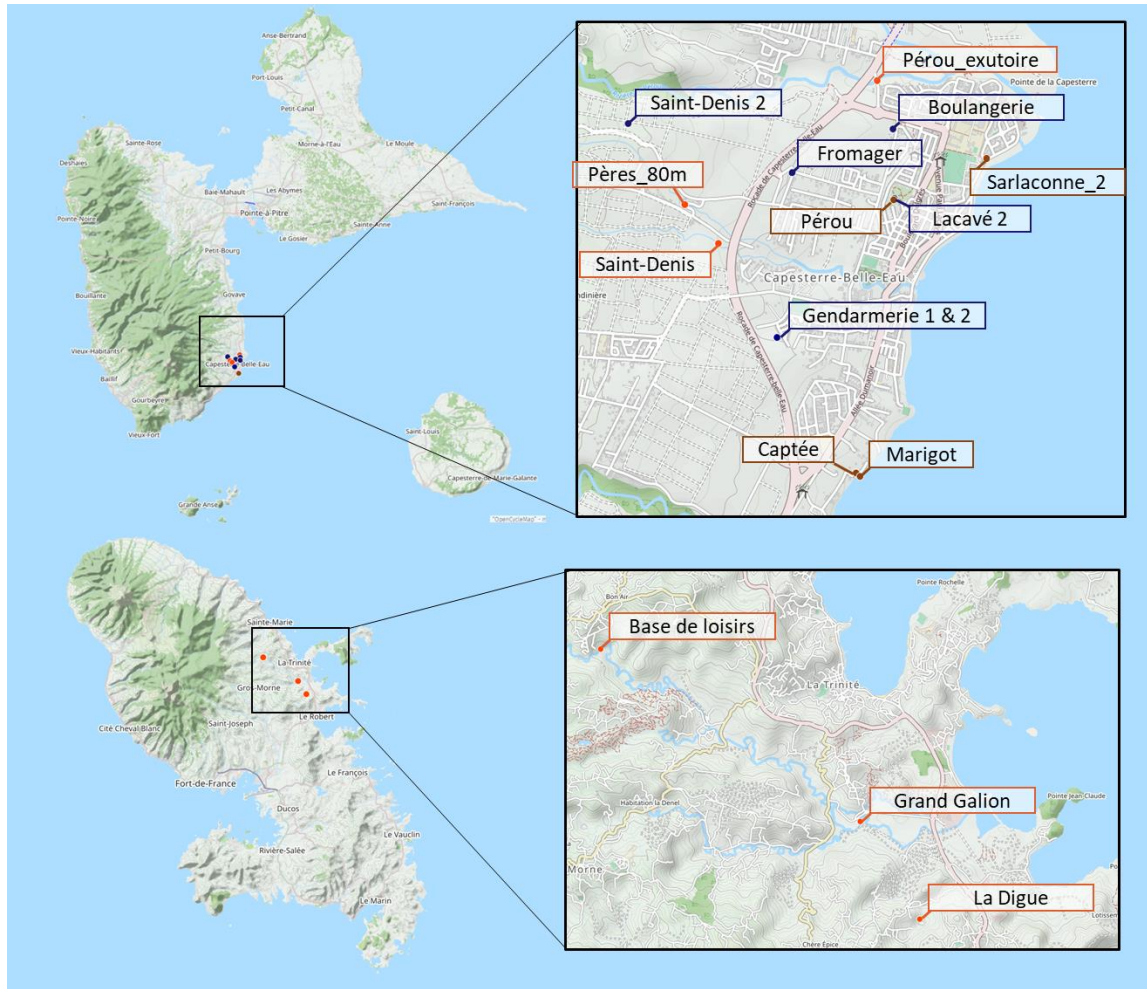


Figure S3.22. Map of Guadeloupe and Martinique islands displaying the locations of surface (in orange) and ground (spring = brown and well = blue) waters sampling stations. The distance between the two islands is not to scale. (<https://umap.openstreetmap.fr>)

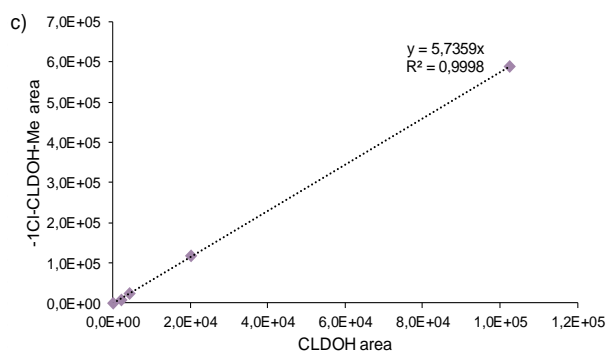
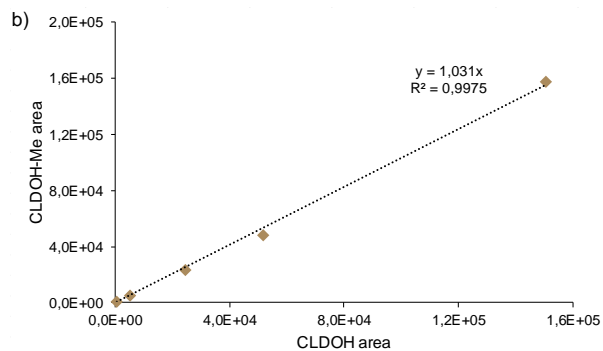
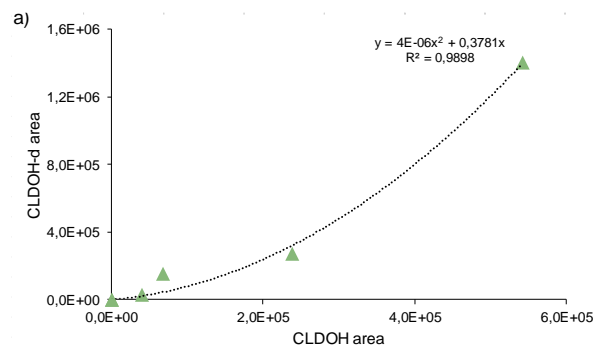


Figure S3.23. Response in SPME-GC-SIM-MS for: a) CLDOH-d (m/z 221) vs. CLDOH (m/z 220) in the range of 0-5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, b) CLDOH-Me (m/z 234) vs. CLDOH (m/z 220) in the range of 0-1.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and c) -1Cl-CLDOH-Me (m/z 234) vs. CLDOH (m/z 220) in the range of 0-1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

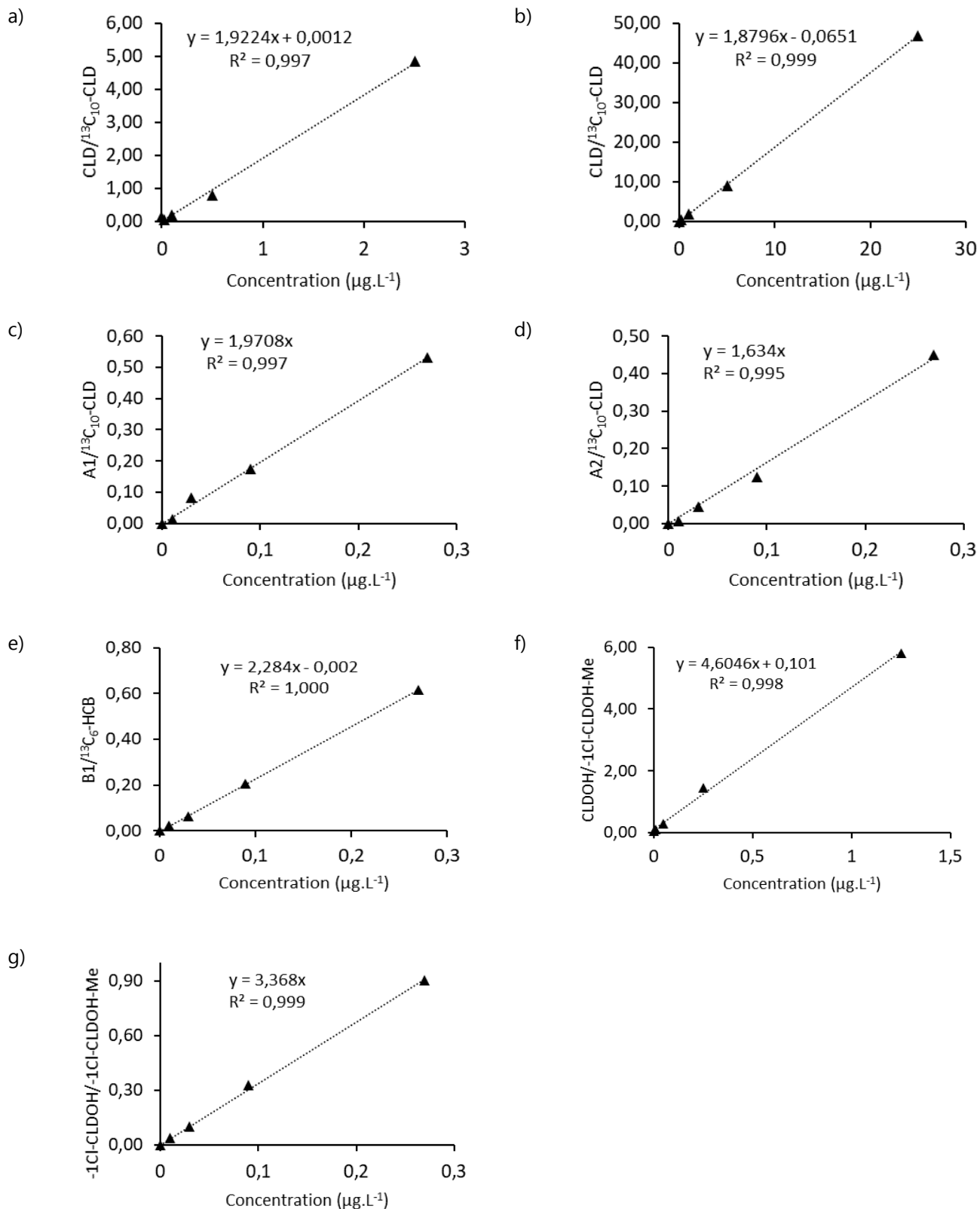
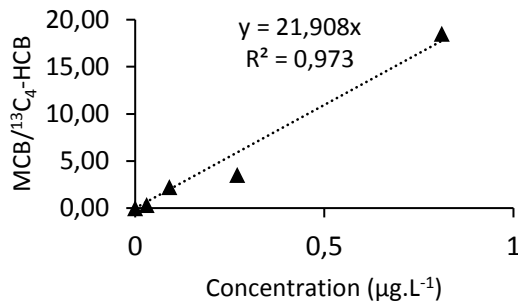
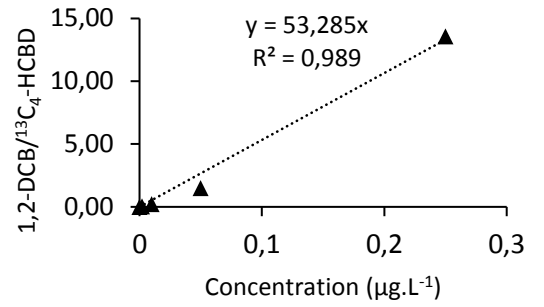


Figure S3.24. Calibration curves obtained in SPME-GC-SIM-MS for: a) CLD in the range of 0-2.5 $\mu\text{g.L}^{-1}$, b) CLD in the range of 0-25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, c) A1, d) A2, e) B1 in the range of 0-0.270 $\mu\text{g.L}^{-1}$, f) CLDOH in the range of 0-1.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and g) -1Cl-CLDOH-Me in the range of 0-0.270 $\mu\text{g.L}^{-1}$

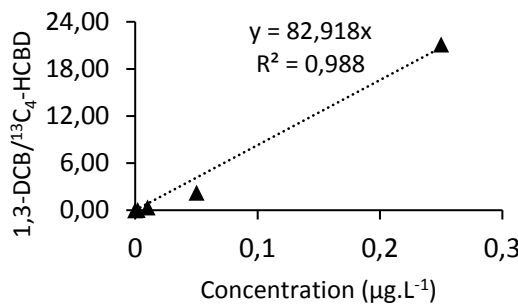
a)



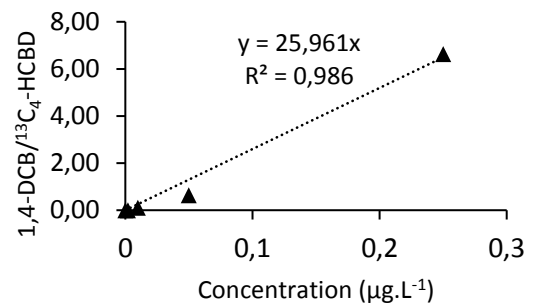
b)



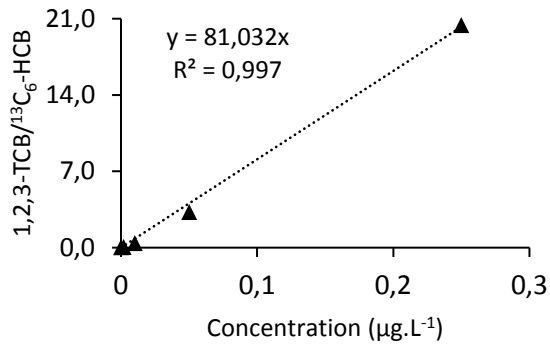
c)



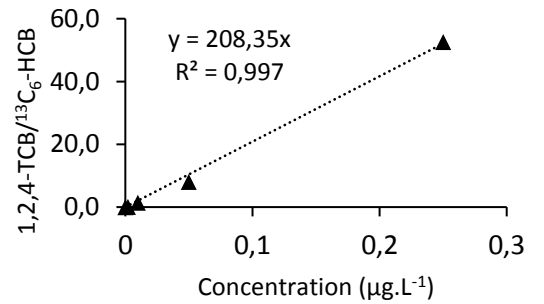
d)



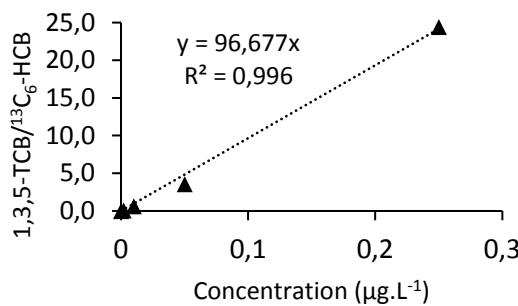
e)



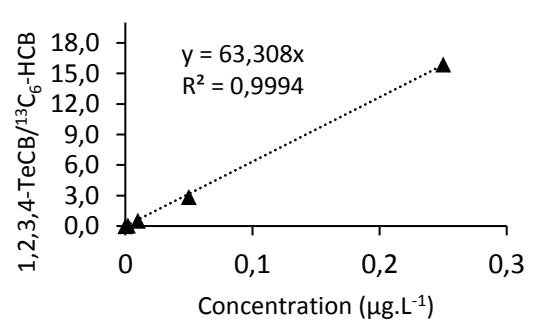
f)

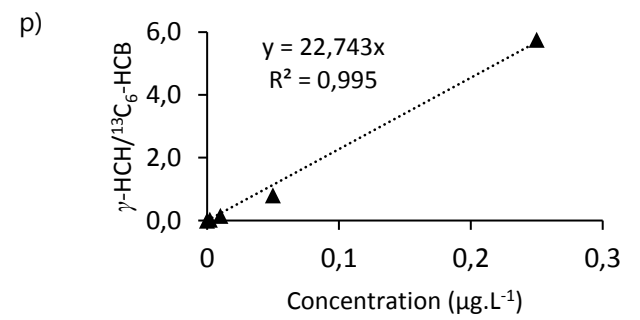
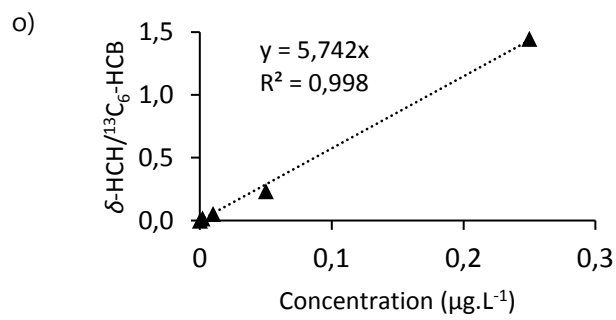
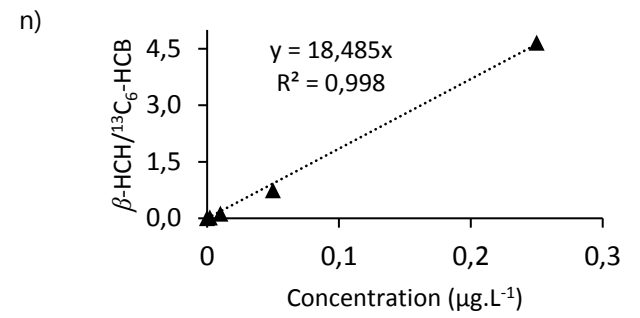
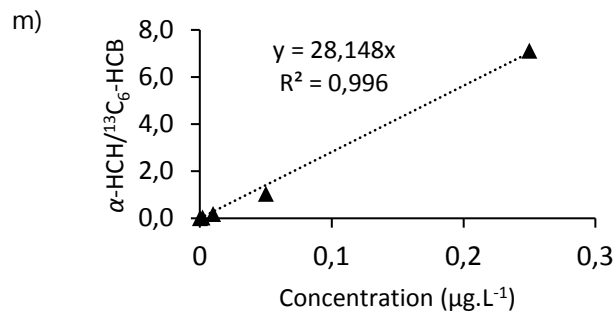
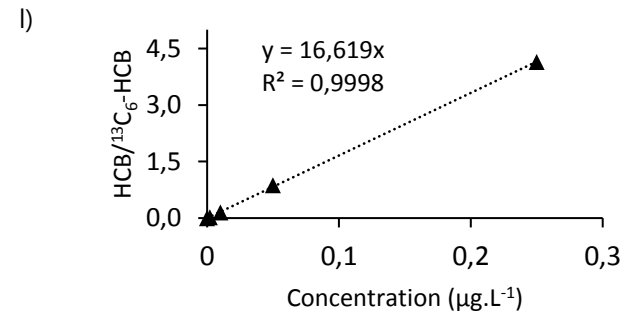
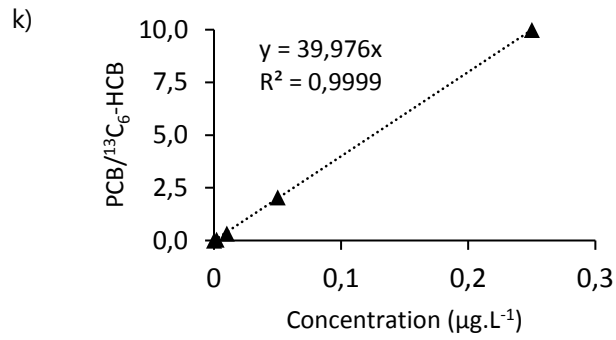
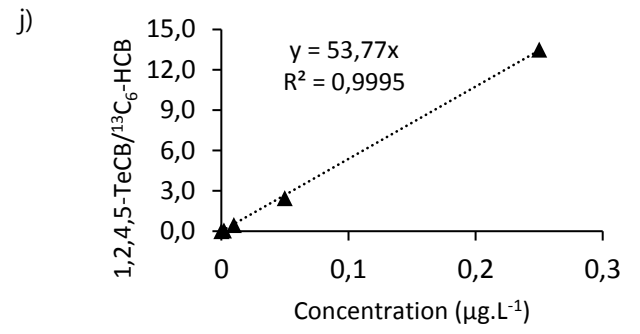
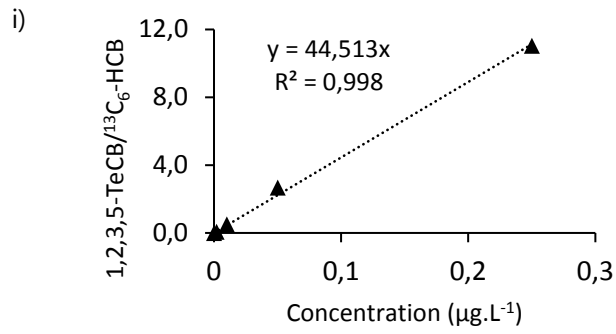


g)



h)





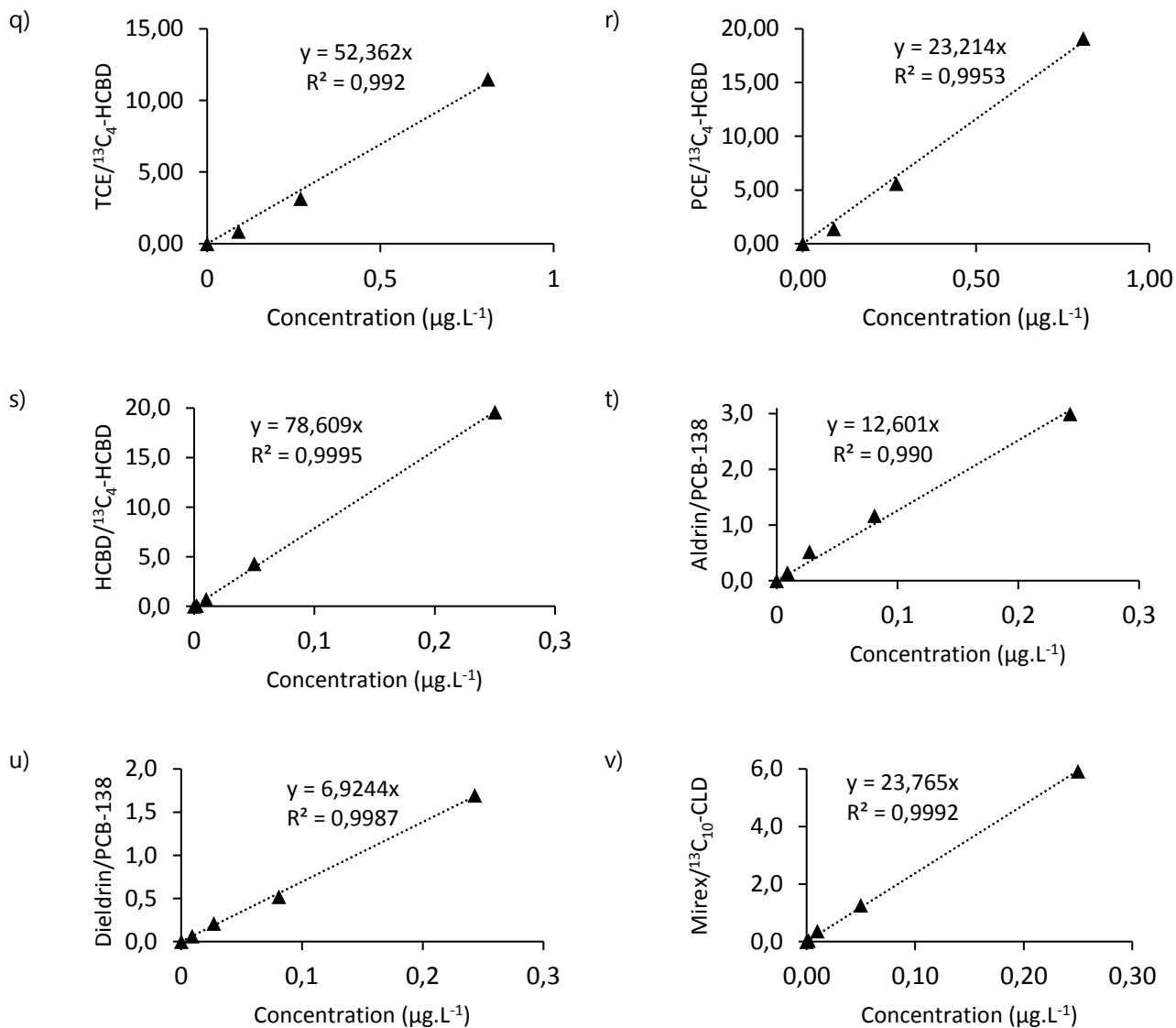


Figure S3.25. Examples of calibration curves obtained in SPME-GC-SIM-MS for HCB and its TPs, with a) MCB in the range of 0-0.27 $\mu\text{g.L}^{-1}$, b-l) HCB and derivatives in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, HCHs with m-p) HCHs in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and other OCs with q-r) TCE and PCE in the range of 0-0.81 $\mu\text{g.L}^{-1}$, s) HCBD in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, t-v) aldrin, dieldrin and mirex in the range of 0-0.25 $\mu\text{g.L}^{-1}$

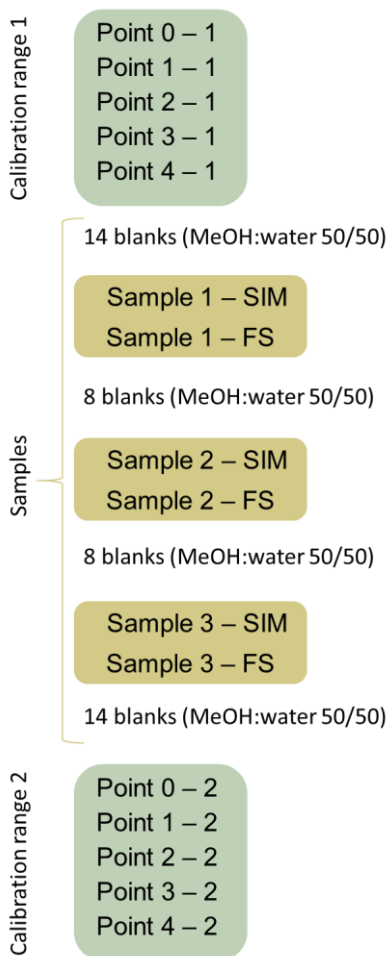


Figure S3.26. Scheme of a typical injection sequence comprising three water samples analyzed in SIM and FS modes, bracketed by two calibration ranges and separated by a number of blanks (MeOH:water, 50/50) depending on the subsequent analyses

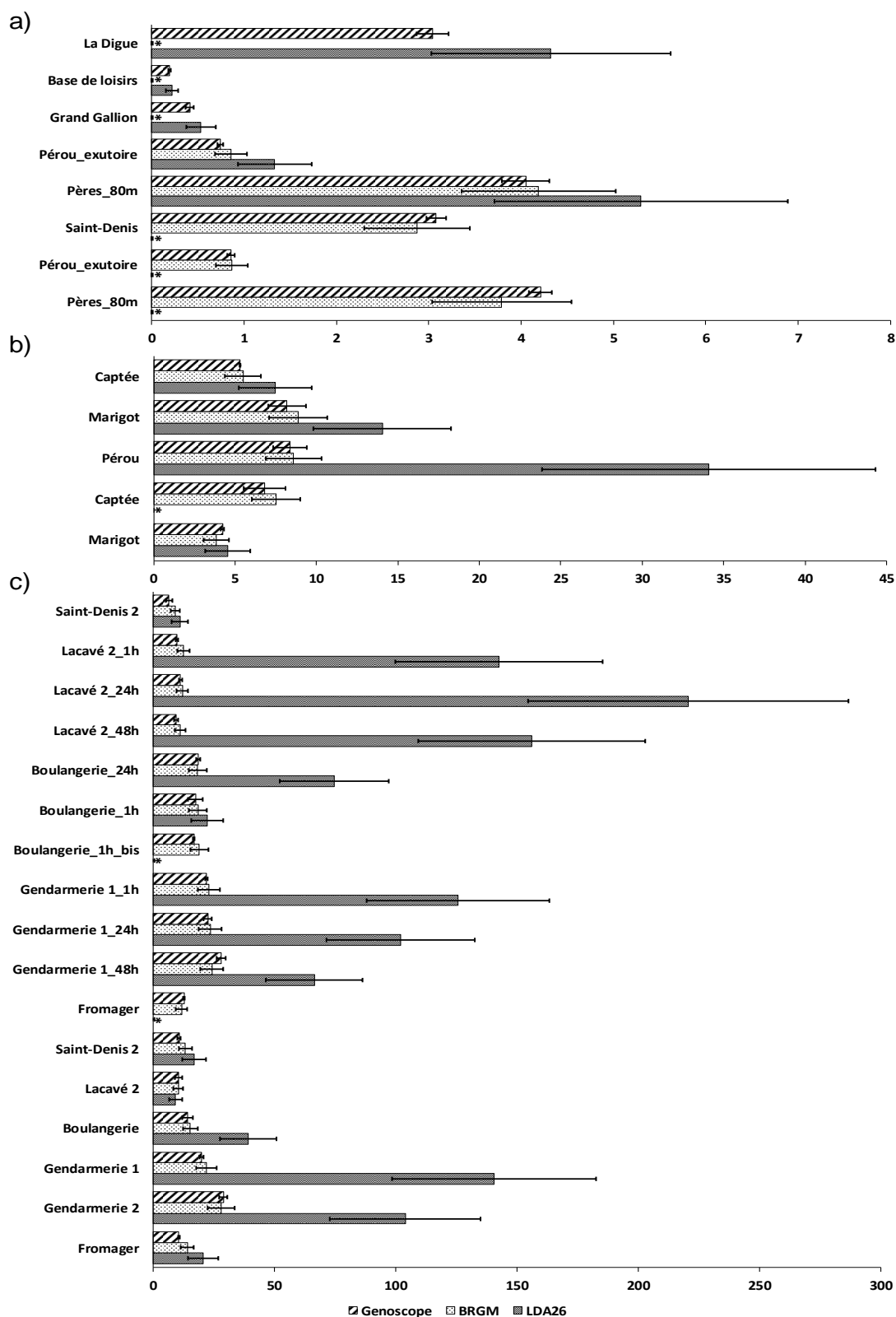


Figure S3.27. Concentrations expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$ of CLD in: a) river, b) spring and c) well waters from Martinique and Guadeloupe obtained by SPME-GC-SIM-MS (Genoscope), LLE-GC-MS/MS (BRGM) and LLE-LC-MS/MS (LDA26). Error bars correspond to standard deviation for Genoscope ($n = 2$), uncertainty of 20 % for BRGM and 30 % for LDA26, *= not analyzed

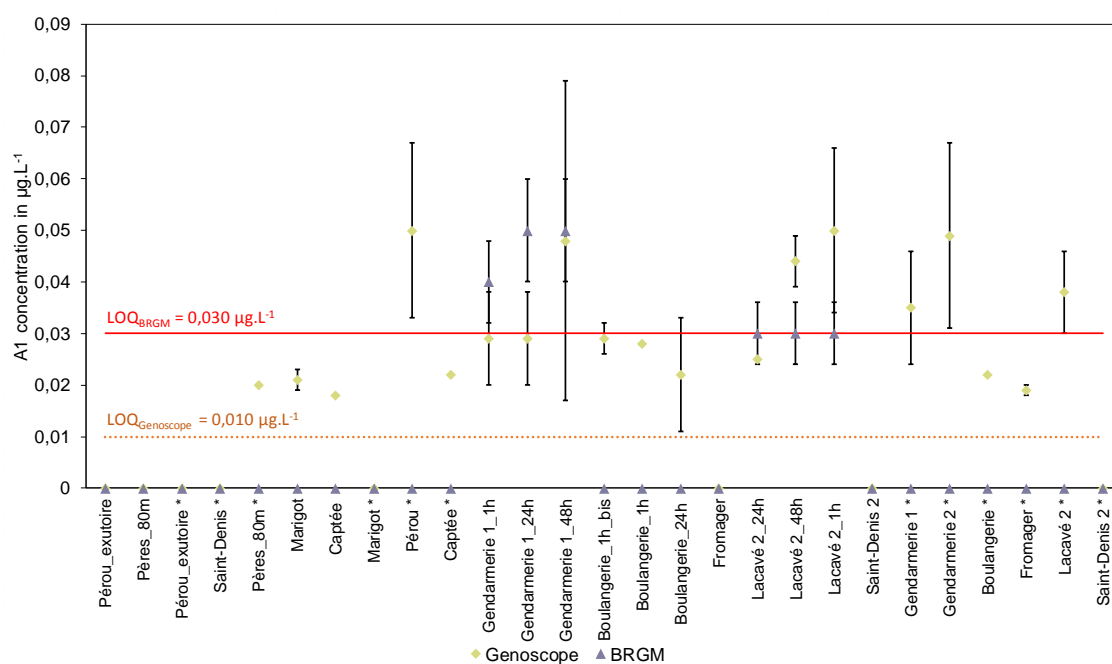


Figure S3.28. A1 concentrations expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$ obtained by SPME-GC-SIM-MS (Genoscope) and LLE-GC-MS/MS (BRGM). *: samples from the 2nd sampling campaign

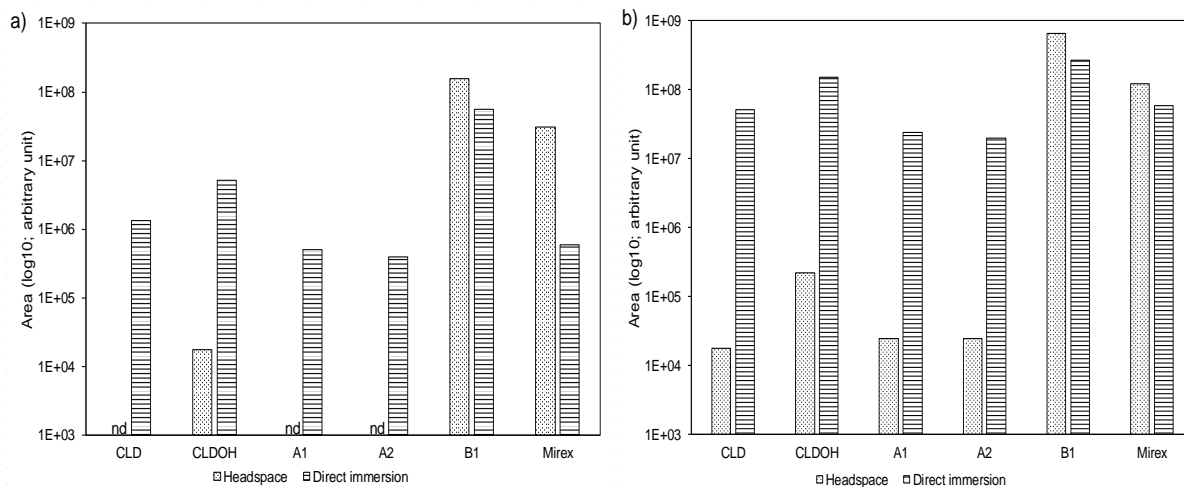


Figure S3.29. Response of CLD, its TPs and mirex supplemented in water for direct immersion (DI-SPME-GC-SIM-MS) and headspace (HS-SPME-GC-SIM-MS) for: a) $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ and b) $50 \mu\text{g.L}^{-1}$. The extraction procedure was set as follow: after an incubation of the sample at $80 \text{ }^\circ\text{C}$ for 5 min, the PDMS-DVB fiber was immersed in water (direct immersion) or maintained over the water surface (headspace) for 10 minute. Then, compounds were desorbed from fiber in GC-MS injector for 5 minutes at $270 \text{ }^\circ\text{C}$

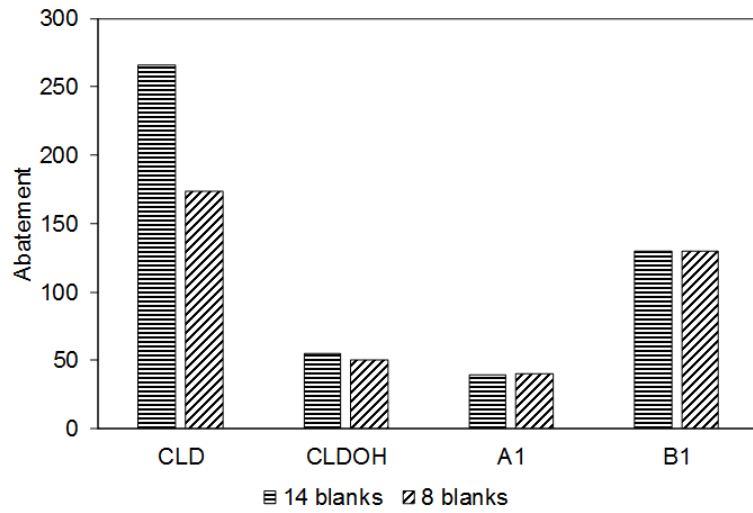


Figure S3.30. Abatement rate of CLD, CLDOH, A1 and B1 after 14 or 8 blanks following an analysis of $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ in water with SPME-GC-SIM-MS

4. Supporting tables

		First campaign			Second cam- paign	Location			
						Longitude	Latitude		
Martinique	River water	Grand Galion	12/12/21	-	-	-	-60.960345	14.717174	
		Base de Loisirs	12/12/21	-	-	-	-61.001201	14.743426	
		La Digue	12/12/21	-	-	-	-60.95099	14.702335	
Guadeloupe	River water	Pérou_exutoire	11/04/2022	-	-	12/10/2022	-61.566972	16.054225	
		Pères_80m	12/04/2022	-	-	12/10/2022	-61.579498	16.046721	
		Saint-Denis	-	-	-	12/10/2022	-61.577305	16.04439	
	Ground water	Spring	Pérou	-	-	-	10/10/2022	-61.565887	16.047022
			Captée	12/04/2022	-	-	11/10/2022	-61.567267	16.031128
			Sarlaconne_2	12/04/2022	-	-	-	-61.55982	16.04952
		Marigot	11/04/2022	-	-	11/10/2022	-61.568067	16.030289	
		Gendarmerie 1	01/06/2022	02/06/2022	03/06/2022	10/10/2022	-61.573444	16.038689	
		Gendarmerie 2	-	-	-	10/10/2022	-61.573472	16.038682	
		Boulangerie	04/05/2022	05/05/2022	19/07/2022	10/10/2022	-61.565926	16.051312	
	Well	Lacavé 2	15/05/2022	18/05/2022	19/05/2022	10/10/2022	-61.565856	16.047108	
		Saint-Denis 2	12/04/2022	-	-	12/10/2022	-61.583164	16.051610	
		Fromager	19/07/2022	-	-	11/10/2022	-61.572507	16.048668	

Tableau S3.1. Information on the location and dates of samplings for surface and ground (spring and well) waters

Studied parameters	Fiber	Extraction temperature	Extraction time	Desorption time	Desorption temperature	Salts
Fiber	tested	80	40	15	270	None
Extraction temperature	PDMS-DVB	tested	40	15	270	None
Extraction time0000	PDMS-DVB	80	tested	15	270	None
Desorption time	PDMS-DVB	80	40	tested	270	None
Desorption temperature	PDMS-DVB	80	40	15	tested	None
Salts (NaCl)	PDMS-DVB	80	40	15	270	tested

Tableau S3.2. Overview of the optimization process varying fiber type, extraction temperature and time, desorption time and temperature and addition of salts (NaCl)

Compound	Abbreviation	Formula	Retention time	Quantifying ion	Qualifying ion	Internal standard
2,4,5,7-/2,4,6,7-tetrachloroindene	B3/B4	C ₉ Cl ₄ H ₄	24.20	217	254	¹³ C ₆ -HCB
4,5,6,7-tetrachloroindene	B2	C ₉ Cl ₄ H ₄	24.31	217	254	¹³ C ₆ -HCB
2,4,5,6,7-pentachloroindene	B1	C ₉ Cl ₅ H ₃	27.16	253	288	¹³ C ₆ -HCB
8-monohydrochlordecone	A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	30.12	272	237	¹³ C ₁₀ -CLD
10-monohydrochlordecone	A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	30.41	238	236	¹³ C ₁₀ -CLD
chlordecone	CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	31.48	272	237	¹³ C ₁₀ -CLD
¹³ C ₁₀ -chlordecone	¹³ C ₁₀ -CLD	¹³ C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	31.48	277	242	Internal standard
10-monohydrochlordecol	-1Cl-CLDOH	C ₁₀ Cl ₉ OH ₃	33.05	220	218	-1Cl-CLDOH-Me
10-monohydro-5-methylchlordecol	-1Cl-CLDOH-Me	C ₁₁ Cl ₉ OH ₅	33.13	234	236	Internal standard
chlordecol	CLDOH	C ₁₀ Cl ₁₀ OH ₂	34.33	220	218	-1Cl-CLDOH-Me
10-monodeuteriochlordecol *	CLDOH-d	C ₁₀ Cl ₁₀ OHD	34.33	221	219	Internal standard
5-methylchlordecol*	CLDOH-Me	C ₁₁ Cl ₁₀ OH ₄	34.42	234	232	Internal standard
chlordecthiol*	F1	C ₁₀ Cl ₁₀ SH ₂	34.74	236	475	¹³ C ₁₀ -CLD

Tableau S3.3. CLD and its TPs monitored in SPME-GC-SIM-MS and their analytical parameters. *: compounds not included as IS or not targeted OC in the final protocol

	Compound	Abbreviation	Formula	Retention time	Quantifying ion	Qualifying ion	Internal standard
HCB and TPS	chlorobenzene	MCB	C ₆ H ₅	4.81	112	114	¹³ C ₄ -HCB
	1,3-dichlorobenzene	1,3-DCB	C ₆ Cl ₂ H ₄	15.28	146	111	¹³ C ₄ -HCB
	1,2-dichlorobenzene	1,2-DCB	C ₆ Cl ₂ H ₄	16.10	146	111	¹³ C ₄ -HCB
	1,4-dichlorobenzene	1,4-DCB	C ₆ Cl ₂ H ₄	15.74	146	111	¹³ C ₄ -HCB
	1,3,5-trichlorobenzene	1,3,5-TCB	C ₆ Cl ₃ H ₃	17.25	180	145	¹³ C ₆ -HCB
	1,2,4-trichlorobenzene	1,2,4-TCB	C ₆ Cl ₃ H ₃	17.67	180	145	¹³ C ₆ -HCB
	1,2,3-trichlorobenzene	1,2,3-TCB	C ₆ Cl ₃ H ₃	17.95	180	145	¹³ C ₆ -HCB
	1,2,3,5-tetrachlorobenzene	1,2,3,5-TeCB	C ₆ Cl ₄ H ₂	19.04	216	179	¹³ C ₆ -HCB
	1,2,4,5-tetrachlorobenzene	1,2,4,5-TeCB	C ₆ Cl ₄ H ₂	19.07	216	179	¹³ C ₆ -HCB
	1,2,3,4-tetrachlorobenzene	1,2,3,4-TeCB	C ₆ Cl ₄ H ₂	19.58	216	179	¹³ C ₆ -HCB
	pentachlorobenzene	PCB	C ₆ Cl ₅ H	21.26	250	215	¹³ C ₆ -HCB
	hexachlorobenzene	HCB	C ₆ Cl ₆	23.78	286	249	¹³ C ₆ -HCB
	¹³ C ₆ -hexachlorobenzene	¹³ C ₆ -HCB	¹³ C ₆ Cl ₆	23.78	290	255	Internal standard
HCHs	α-hexachlorocyclohexane	α-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	23.75	181	219	¹³ C ₆ -HCB
	β-hexachlorocyclohexane	β-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	24.48	181	219	¹³ C ₆ -HCB
	γ-hexachlorocyclohexane/Lin-	γ-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	24.69	181	219	¹³ C ₆ -HCB
	δ-hexachlorocyclohexane	δ-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	25.48	181	219	¹³ C ₆ -HCB
Other OCs	trichloroethylene	TCE	C ₂ Cl ₃ H	2.20	132	95	¹³ C ₄ -HCB
	perchloroethylene	PCE	C ₂ Cl ₄	3.73	166	129	¹³ C ₄ -HCB
	1,3-hexachlorobutadiène	HCB	C ₄ Cl ₆	17.95	225	260	¹³ C ₄ -HCB
	¹³ C ₄ -hexachlorobutadiene	¹³ C ₄ -HCB	¹³ C ₄ Cl ₆	17.95	229	264	Internal standard
	aldrin	-	C ₁₂ Cl ₆ H ₈	27.45	263	293	PCB-138
	dieldrin	-	C ₁₂ Cl ₆ OH ₈	30.07	263	279	PCB-138
	2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl	PCB-138	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	32.04	360	290	Internal standard
mirex	-	C ₁₀ Cl ₁₂	34.48	272	237	¹³ C ₁₀ -CLD	

Tableau S3.4. List of other organochlorines monitored in SPME-GC-SIM-MS and their analytical parameters

	Compound	Abbreviation	Formula	Retention time (min)	Quantifying ion	Qualifying ion	Internal standard
CLD and TPs	2,4,5,7-/2,4,6,7-tetrachloroindene	B3/B4	C ₉ Cl ₄ H ₄	4.80	217	254	¹³ C ₆ -HCB
	4,5,6,7-tetrachloroindene	B2	C ₉ Cl ₄ H ₄	5.25	217	254	¹³ C ₆ -HCB
	2,4,5,6,7-pentachloroindene	B1	C ₉ Cl ₅ H ₃	6.60	253	288	¹³ C ₆ -HCB
	8-monohydrochlordecone	A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	8.87	272	237	¹³ C ₁₀ -CLD
	10-monohydrochlordecone	A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	9.16	238	236	¹³ C ₁₀ -CLD
	chlordecone	CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	10.06	272	237	¹³ C ₁₀ -CLD
	¹³ C ₁₀ -chlordecone	¹³ C ₁₀ -CLD	¹³ C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	10.06	277	242	Internal standard
HCB and TPs	pentachlorobenzene	PCB	C ₆ Cl ₅ H	3.20	250	215	¹³ C ₆ -HCB
	hexachlorobenzene	HCB	C ₆ Cl ₆	4.43	284	249	¹³ C ₆ -HCB
	¹³ C ₆ -hexachlorobenzene	¹³ C ₆ -HCB	¹³ C ₆ Cl ₆	4.43	290	255	Internal standard
HCHs	α-hexachlorocyclohexane	α-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	4.37	181	219	¹³ C ₆ -HCB
	β-hexachlorocyclohexane	β-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	4.75	181	219	¹³ C ₆ -HCB
	γ-hexachlorocyclohexane/Lin-	γ-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	4.88	181	219	¹³ C ₆ -HCB
	δ-hexachlorocyclohexane	δ-HCH	C ₆ Cl ₆ H ₆	5.35	181	219	¹³ C ₆ -HCB
Other OCs	aldrin	-	C ₁₂ Cl ₆ H ₈	6.78	263	293	PCB-138
	dieldrin	-	C ₁₂ Cl ₆ OH ₈	8.87	263	279	PCB-138
	2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphenyl	PCB-138	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	10.62	360	290	Internal standard
	mirex	-	C ₁₀ Cl ₁₂	12.80	272	237	¹³ C ₁₀ -CLD

Tableau S3.5. CLD, its TPs and other organochlorines monitored in LLE-GC-SIM-MS and their analytical parameters

Compound	Abbreviation	Formula	Retention time	Quantifying ion	Qualifying ion	Internal standard
10-monohydrochlordecone	A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	6.38	472.7182	474.7147	¹³ C ₁₀ -CLD
8-monohydrochlordecone	A2	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	6.57	472.7182	474.7147	¹³ C ₁₀ -CLD
chlordecone	CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	6.80	506.6890	508.6763	¹³ C ₁₀ -CLD
¹³ C ₁₀ -chlordecone	¹³ C ₁₀ -CLD	¹³ C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	6.80	516.7140	518.7112	Internal standard

Tableau S3.6. CLD, its TPs and other organochlorines monitored in LLE-LC-HRMS and their analytical parameters

Compounds	Abbreviation	Concentration levels (ng.L ⁻¹)	Accuracy (%)	RSD (%)	Linearity range (ng.L ⁻¹)	Coefficient of determination (R ²)	LOD (ng.L ⁻¹)	LOQ (ng.L ⁻¹)	
HCB and TPS	chlorobenzene	25.0	77	38	0-270	0.973	3.0	9.0	
		125.0	100	61					
	1,3-dichlorobenzene	1,3-DCB	15.0	54	7	0-250	0.988	0.3	0.95
			75.0	57	12				
	1,4-dichlorobenzene	1,4-DCB	15.0	57	40	0-250	0.986	0.4	1.3
			75.0	54	39				
	1,2-dichlorobenzene	1,2-DCB	15.0	61	10	0-250	0.989	0.3	0.9
			75.0	61	37				
	1,3,5-trichlorobenzene	1,3,5-TCB	15.0	71	20	0-250	0.997	0.33	1.0
			75.0	64	8				
	1,2,4-trichlorobenzene	1,2,4-TCB	15.0	76	23	0-250	0.997	0.3	0.9
			75.0	74	11				
	1,2,3-trichlorobenzene	1,2,3-TCB	15.0	106	11	0-250	0.996	0.3	0.9
			75.0	79	9				
	1,2,3,5-tetrachlorobenzene	1,2,3,5-TeCB	15.0	99	19	0-250	0.9994	0.6	1.8
			75.0	65	13				
	1,2,4,5-tetrachlorobenzene	1,2,4,5-TeCB	15.0	78	20	0-250	0.998	0.7	2.0
			75.0	74	11				
1,2,3,4-tetrachlorobenzene	1,2,3,4-TeCB	15.0	74	21	0-250	0.9995	0.7	2.0	
		75.0	73	6					
pentachlorobenzene	PCB	15.0	83	7	0-250	0.9995	0.3	0.9	
		75.0	83	23					
hexachlorobenzene	HCB	15.0	92	6	0-250	0.9998	0.7	2.0	
		75.0	91	6					
HCHs	α -hexachlorocyclohexane	15.0	62	5	0-250	0.996	0.7	2.0	
		75.0	123	7					
	β -hexachlorocyclohexane	β -HCH	15.0	84	21	0-250	0.998	0.6	1.8
			75.0	122	23				
	γ -hexachlorocyclohexane /Lindane	γ -HCH	15.0	69	9	0-250	0.995	0.3	0.8
			75.0	127	4				
δ -hexachlorocyclohexane	δ -HCH	15.0	60	56	0-250	0.998	0.6	1.8	
		75.0	133	31					
Other OCs	trichloroethylene	75.0	80	35	0-810	0.992	10.0	30	
		125.0	97	43					
	perchloroethylene	PCE	75.0	94	23	0-810	0.995	6.0	17
			125.0	101	20				
	1,3-hexachlorobutadiène	1,3-HCBD	15.0	84	8	0-250	0.9995	0.4	1.2
			75.0	75	9				
	aldrin	-	23.0	88	20	0-243	0.990	3.0	9.0
			113.0	80	4				
	dieldrin	-	23.0	82	6	0-243	0.9987	3.0	9.0
			113.0	84	18				
mirex	-	15.0	121	11	0-250	0.9992	0.7	2.0	
		75.0	109	9					

Tableau S3.7. Performance criteria of the SPME method for other organochlorines. Calibration curves carried out with 5 points (Fig. S21). RSD = Relative standard deviation; Accuracies with n = 3

Test	CLD area	Abatement ratio	Number of blanks	Time of extraction	Time of desorption	Time of wash	Time of conditioning	Time of cleaning sequence
1	8.7 x 10 ⁵	102	5	3 min	5 min	0.5 min	2.5 min	70 min
2	8.5 x 10 ⁵	136	6	1 min	5 min	0.5 min	2.5 min	72 min
3	7.7 x 10 ⁵	123	5	3 min	5 min	2.5 min	0.5 min	70 min
4	8.2 x 10 ⁵	201	7	1 min	5 min	0.5 min	1 min	73.5 min
5	8.5 x 10 ⁵	194	8	0.5 min	4 min	0.5 min	0.5 min	73.6 min
6	5.4 x 10 ⁵	123	9	1 min	3.5 min	0.5 min	1 min	82.8 min
7	6.2 x 10 ⁵	136	9	0.5 min	5 min	0.5 min	0.5 min	72 min
8	6.3 x 10 ⁵	114	7	1 min	5 min	0.5 min	1 min	73.5 min
9	5.4 x 10⁵	151	8	0.5 min	5 min	0.5 min	0.5 min	73.6 min
10	1.9 x 10 ⁵	127	8	1 min	4 min	0.5 min	1 min	73.6 min
11	5.1 x 10 ⁵	101	9	0.5 min	3.5 min	0.5 min	0.5 min	72 min

Tableau S3.8. Abatement ratios between CLD injected at 10 µg.L⁻¹ in SPME-GC-SIM-MS and CLD detected in blank sample after n blanks varying time of incubation, desorption, washing and conditioning of the fiber. Bold green text corresponds to the selected conditions

Compound	LDA26		BRGM	
	Analytical method	LOQ	Analytical method	LOQ
chlordecone	LC-MS/MS	10 ng.L ⁻¹	GC-MS/MS	30 ng.L ⁻¹
chlordecol	LC-MS/MS	10 ng.L ⁻¹	GC-MS/MS	30 ng.L ⁻¹
8-monohydrochlordecone	LC-MS/MS	10 ng.L ⁻¹	GC-MS/MS	30 ng.L ⁻¹
10-monohydrochlordecone	na	na	GC-MS/MS	30 ng.L ⁻¹
1,2,3,5-tetrachlorobenzene	GC-MS/MS	10 ng.L ⁻¹	na	na
1,2,4,5-tetrachlorobenzene	GC-MS/MS	5 ng.L ⁻¹	na	na
1,2,3,4-tetrachlorobenzene	GC-MS/MS	1 ng.L ⁻¹	na	na
pentachlorobenzene	GC-MS/MS	5 ng.L ⁻¹	na	na
hexachlorobenzene	GC-MS/MS	5 ng.L ⁻¹	na	na
α-hexachlorocyclohexane	GC-MS/MS	2 ng.L ⁻¹	na	na
β-hexachlorocyclohexane	GC-MS/MS	5 ng.L ⁻¹	na	na
γ-hexachlorocyclohexane/Lindane	GC-MS/MS	2 ng.L ⁻¹	na	na
δ-hexachlorocyclohexane	GC-MS/MS	2 ng.L ⁻¹	na	na
aldrin	GC-MS/MS	10 ng.L ⁻¹	na	na
dieldrin	GC-MS/MS	10 ng.L ⁻¹	na	na
mirex	GC-MS/MS	5 ng.L ⁻¹	na	na

Tableau S3.9. Summary of OCs targeted by LDA26 and BRGM with analytical methods used and estimated LOQ in ng.L⁻¹. na: not analyzed

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope			BRGM	LDA26	
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS	LLE-LC-HRMS	LLE-GC-MS/MS	LLE-LC-MS/MS	
Martinique	River waters	Grand Galion	0.41 ± 0.04	na	na	na	0.53
		Base de Loisirs	0.19 ± 0.02	na	na	na	0.22
		La Digue	3.04 ± 0.18	na	na	na	4.32
River water	Pérou_exutoire	0.74 ± 0.03	0.87	0.61	0.86	1.33	
	Pères_80m	4.02 ± 0.26	4.98	3.17	4.19	5.30	
	Pérou_exutoire	0.86 ± 0.04	0.96	0.92	0.87	na	
	Saint-Denis	3.08 ± 0.11	3.07	3.00	2.87	na	
	Pères_80m	4.21 ± 0.13	4.46	3.56	3.79	na	
Spring water	Marigot	8.19 ± 1.17	6.48	7.88	8.88	14.05	
	Captée	5.32 ± 0.02	3.91	4.34	5.50	7.47	
	Sarlatonne	na	na	na	0.394	0.150	
	Marigot	4.23 ± 0.12	4.58	4.17	3.85	4.56	
	Pérou	8.36 ± 1.04	11.34	8.45	8.59	34.10	
	Captée	6.84 ± 1.29	7.59	7.45	7.52	na	
Guadeloupe	Groundwater	Gendarmerie 1_1h	21.81 ± 0.56	21.29	21.13	22.90	125.80
		Gendarmerie 1_24h	22.48 ± 1.62	18.96	21.77	23.50	101.97
		Gendarmerie 1_48h	27.99 ± 4.99	23.06	22.39	24.10	66.36
		Boulangerie_1h_bis	16.67 ± 0.30	15.03	16.42	19.00	na
		Boulangerie_1h	17.45 ± 3.09	12.4	16.55	18.50	22.30
		Boulangerie_24h	18.42 ± 0.88	14.46	16.04	18.30	74.70
		Fromager	12.69 ± 0.35	11.96	14.88	11.77	na
		Lacavé 2_24h	11.20 ± 0.71	11.91	9.08	12.00	220.6
	Wells	Lacavé 2_48h	9.40 ± 0.83	11.53	9.46	11.00	156.10
		Lacavé 2_1h	9.64 ± 0.45	13.46	9.83	12.40	142.70
		Saint-Denis 2	6.39 ± 1.34	6.39	5.63	9.02	11.00
		Gendarmerie 1	19.79 ± 0.91	18.80	20.73	21.90	140.60
		Gendarmerie 2	28.91 ± 1.77	44.19	25.69	27.90	103.90
		Boulangerie	14.03 ± 2.17	17.03	16.77	15.30	39.10
		Fromager	10.57 ± 0.46	14.99	14.88	14.00	20.60
		Lacavé 2	10.42 ± 1.50	12.70	11.56	10.30	9.20
Saint-Denis 2	10.67 ± 0.73	17.62	12.29	13.20	16.80		

Tableau S3.10. CLD concentrations (expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, $n = 2$), LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS (Genoscope, $n = 1$), with LLE-GC-MS/MS (BRGM) and with LLE-LC-MS/MS (LDA26). For BRGM and LDA26, uncertainties were set at 20 % and 30 % ($n = 1$), respectively; na: not analyzed; nd: not detected

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope			BRGM		
		SPME-GC- SIM-MS	LLE-GC- SIM-MS	LLE-LC- HRMS	LLE-GC- MS/MS		
Martinique	River waters	Grand Galion	0.039*	na	na	na	
		Base de Loisirs	nd	na	na	na	
		La Digue	0.096 ± 0.054	na	na	na	
Guadeloupe	River water	Pérou_exutoire	nd	nd	0.002	nd	
		Pères_80m	< LOQ	nd	0.006	nd	
		Pérou_exutoire	nd	nd	0.004	nd	
		Saint-Denis	nd	nd	0.061	nd	
		Pères_80m	0.020*	nd	0.009	nd	
	Spring water	Marigot	0.021 ± 0.002	nd	0.014	nd	
		Captée	0.018*	nd	0.007	nd	
		Sarlaconne	na	na	na	nd	
		Marigot	nd	nd	0.012	nd	
		Pérou	0.050 ± 0.017	nd	0.025	nd	
		Captée	0.022*	nd	0.010	nd	
	Groundwater	Wells	Gendarmerie 1_1h	0.029 ± 0.009	nd	0.037	0.04
			Gendarmerie 1_24h	0.029 ± 0.009	nd	0.036	0.05
			Gendarmerie 1_48h	0.048 ± 0.031	nd	0.036	0.05
			Boulangerie_1h_bis	0.029 ± 0.003	0.018	0.047	nd
Boulangerie_1h			0.028*	nd	0.036	nd	
Boulangerie_24h			0.022 ± 0.011	nd	0.037	nd	
Fromager			nd	nd	0.043	nd	
Lacavé 2_24h			0.025*	nd	0.086	0.03	
Lacavé 2_48h			0.044 ± 0.005	nd	0.051	0.03	
Lacavé 2_1h			0.050 ± 0.016	nd	0.042	0.03	
Saint-Denis 2		nd	nd	0.002	nd		
Gendarmerie 1		0.035 ± 0.011	0.016	0.042	nd		
Gendarmerie 2		0.049 ± 0.018	nd	0.078	nd		
Boulangerie		0.022*	nd	0.050	nd		
Fromager	0.019 ± 0.001	nd	0.048	nd			
Lacavé 2	0.038 ± 0.008	0.082	0.106	nd			
Saint-Denis 2	nd	nd	0.187	nd			

Tableau S3.11. A1 concentrations (expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS (Genoscope, n = 1) and with LLE-GC-MS/MS (BRGM). For BRGM, n = 1; na: not analyzed; < LOQ: < 0.010 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; nd: not detected; *: detected in one sample only

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope			BRGM	LDA26		
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS	LLE-LC-HRMS	LLE-GC-MS/MS	LLE-LC-MS/MS		
Martinique	River waters	Grand Galion	nd	na	na	na	nd	
		Base de Loisirs	nd	na	na	na	na	nd
		La Digue	0.058 ± 0.006	na	na	na	na	nd
River water	Pérou_exutoire	nd	0.034	0.009	nd	0.015		
	Pères_80m	0.053 ± 0.002	0.062	0.057	0.074	0.079		
	Pérou_exutoire	nd	nd	0.007	nd	na		
	Saint-Denis	0.034 ± 0.006	nd	0.029	0.033	na		
	Pères_80m	0.038 ± 0.001	nd	0.025	0.045	na		
Spring water	Marigot	0.123 ± 0.002	0.143	0.150	0.214	0.196		
	Captée	0.074 ± 0.007	0.114	0.071	0.126	0.087		
	Sarlaconne	na	na	na	nd	nd		
	Marigot	0.043 ± 0.001	0.014	0.034	0.051	nd		
	Pérou	0.087 ± 0.005	0.096	0.064	0.075	nd		
	Captée	0.110 ± 0.018	0.072	0.059	0.110	na		
Guadeloupe	Groundwater	Gendarmerie 1_1h	0.329 ± 0.001	nd	0.92	0.960	1.34	
		Gendarmerie 1_24h	0.285 ± 0.076	0.08	0.80	0.928	0.547	
		Gendarmerie 1_48h	0.403 ± 0.180	0.201	0.84	0.916	0.401	
		Boulangerie_1h_bis	0.207 ± 0.002	nd	0.33	0.258	na	
		Boulangerie_1h	0.198 ± 0.002	nd	0.26	0.340	0.260	
		Boulangerie_24h	0.181 ± 0.008	0.214	0.24	0.320	0.265	
		Fromager	nd	0.100	0.34	0.112	na	
	Wells	Lacavé 2_24h	0.072 ± 0.003	0.27	0.093	0.187	0.207	
		Lacavé 2_48h	0.071 ± 0.015	0.50	0.105	0.250	nd	
		Lacavé 2_1h	0.100 ± 0.009	0.53	0.10	0.177	0.188	
		Saint-Denis 2	0.048 ± 0.002	0.28	0.040	0.052	0.032	
		Gendarmerie 1	0.344 ± 0.025	nd	0.670	0.428	0.46	
		Gendarmerie 2	0.227 ± 0.064	0.193	0.498	0.239	0.15	
		Boulangerie	0.156 ± 0.008	0.194	0.580	0.267	0.26	
		Fromager	0.094 ± 0.002	0.027	0.152	0.110	0.104	
Lacavé 2	0.102 ± 0.008	0.07	0.123	0.111	0.082			
Saint-Denis 2	0.044 ± 0.004	nd	0.048	0.052	0.049			

Tableau S3.12. A2 concentrations (expressed in $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, $n = 2$), LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS (Genoscope, $n = 1$), with LLE-GC-MS/MS (BRGM) and with LLE-LC-MS/MS (LDA26). For BRGM and LDA26, uncertainties were estimated at 30 % ($n = 1$); na: not analyzed; nd: not detected

Type of water	Laboratories	Genoscope	BRGM	LDA26	
	Methods	SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-MS/MS	LLE-LC-MS/MS	
Martinique	River waters				
	Grand Galion	0.043	na	nd	
	Base de Loisirs	nd	na	nd	
	La Digue	1.086	na	0.049	
River water	Pérou_exutoire	0.096	nd	0.060	
	Pères_80m	0.327	0.138	0.136	
	Pérou_exutoire	0.075	0.044	nd	
	Saint-Denis	0.505	0.120	nd	
	Pères_80m	0.192	0.144	nd	
Spring water	Marigot	0.233	0.070	nd	
	Captée	0.138	0.078	nd	
	Sarlaconne	na	nd	nd	
	Marigot	0.228	0.146	nd	
	Pérou	0.391	0.420	nd	
	Captée	0.285	0.331	na	
Guadeloupe	Groundwater	Gendarmerie 1_1h	2.735	0.129	nd
		Gendarmerie 1_24h	1.381	0.135	nd
		Gendarmerie 1_48h	1.636	0.152	nd
		Boulangerie_1h_bis	1.976	0.824	na
		Boulangerie_1h	1.105	0.265	nd
		Boulangerie_24h	1.107	0.310	nd
		Fromager	0.888	1.060	na
	Wells	Lacavé 2_24h	0.890	0.194	nd
		Lacavé 2_48h	0.623	0.110	nd
		Lacavé 2_1h	1.174	0.167	nd
		Saint-Denis 2	0.400	0.076	0.015
		Gendarmerie 1	1.106	1.240	nd
		Gendarmerie 2	1.793	1.150	0.025
		Boulangerie	0.845	0.824	nd
		Fromager	0.889	0.741	nd
Lacavé 2	0.574	0.514	nd		
Saint-Denis 2	1.497	0.650	nd		

Tableau S3.13. CLDOH concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, $n = 1$), with LLE-MS/MS (BRGM) and with LLE-LC-MS/MS (LDA26). For BRGM and LDA26, uncertainties were set at 30 % ($n = 1$); na: not analyzed, nd: not detected

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope
		SPME-GC-SIM-MS
Martinique River waters	Grand Galion	nd
	Base de Loisirs	nd
	La Digue	0.056
River water	Pérou_exutoire	nd
	Pères_80m	nd
	Pérou_exutoire	nd
	Saint-Denis	nd
	Pères_80m	nd
Spring water	Marigot	nd
	Captée	nd
	Marigot	nd
	Pérou	nd
	Captée	nd
Guadeloupe Groundwater	Gendarmerie 1_1h	nd
	Gendarmerie 1_24h	0.012
	Gendarmerie 1_48h	0.015
	Boulangerie_1h_bis	nd
	Boulangerie_1h	nd
	Boulangerie_24h	nd
	Fromager	nd
	Lacavé 2_24h	0.018
	Lacavé 2_48h	nd
	Lacavé 2_1h	0.016
	Saint-Denis 2	nd
	Gendarmerie 1	nd
	Gendarmerie 2	0.016
	Boulangerie	nd
	Fromager	nd
Lacavé 2	nd	
Saint-Denis 2	nd	

Tableau S3.14. 10-monohydroCLDOH concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; < LOQ: < 0.010 $\mu\text{g.L}^{-1}$; nd: not detected

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope			
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS		
Martinique	River waters	Grand Galion	nd	na	
		Base de Loisirs	nd	na	
		La Digue	nd	na	
Guadeloupe	River water	Pérou_exutoire	nd	nd	
		Pères_80m	nd	nd	
		Pérou_exutoire	nd	nd	
		Saint-Denis	nd	nd	
		Pères_80m	nd	nd	
	Spring water	Marigot	nd	nd	
		Captée	nd	nd	
		Marigot	nd	nd	
		Pérou	nd	nd	
		Captée	nd	nd	
	Groundwater	Wells	Gendarmerie 1_1h	nd	nd
			Gendarmerie 1_24h	nd	nd
			Gendarmerie 1_48h	nd	nd
			Boulangerie_1h_bis	nd	nd
			Boulangerie_1h	nd	nd
Boulangerie_24h			nd	nd	
Fromager			nd	nd	
Lacavé 2_24h			nd	nd	
Lacavé 2_48h			< LOQ*	nd	
Lacavé 2_1h			< LOQ*	nd	
Saint-Denis 2		nd	nd		
Gendarmerie 1		nd	nd		
Gendarmerie 2		nd	nd		
Boulangerie		nd	1.8*		
Fromager		nd	nd		
Lacavé 2	nd	nd			
Saint-Denis 2	nd	nd			

Tableau S3.15. B1 concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2) and LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; < LOQ: < 0.009 $\mu\text{g.L}^{-1}$; nd: not detected; nd: not detected; *: only detected in the first replicate sample

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope	
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS
Martinique River waters	Grand Galion	nd	na
	Base de Loisirs	nd	na
	La Digue	nd	na
River water	Pérou_exutoire	nd	nd
	Pères_exutoire	nd	nd
	Pérou_exutoire	nd	nd
	Saint-Denis	nd	nd
	Pères_exutoire	nd	nd
Spring water	Marigot	nd	nd
	Captée	nd	nd
	Marigot	nd	nd
	Pérou	nd	nd
	Captée	nd	nd
Guadeloupe Groundwater	Gendarmerie 1_1h	nd	nd
	Gendarmerie 1_24h	nd	nd
	Gendarmerie 1_48h	nd	nd
	Boulangerie_1h_bis	nd	nd
	Boulangerie_1h	nd	nd
	Boulangerie_24h	nd	nd
	Fromager	nd	nd
	Lacavé 2_24h	nd	nd
	Lacavé 2_48h	nd	nd
	Lacavé 2_1h	nd	nd
	Saint-Denis 2	nd	nd
	Gendarmerie 1	nd	nd
	Gendarmerie 2	nd	nd
	Boulangerie	nd	nd
	Fromager	nd	nd
	Lacavé 2	nd	nd
Saint-Denis 2	nd	nd	

Tableau S3.16. B2 concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2) and LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; nd: not detected.

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope		
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS	
Martinique	River waters	Grand Galion	nd	na
		Base de Loisirs	nd	na
		La Digue	nd	na
River water	Pérou_exutoire	nd	nd	
	Pères_80m	nd	nd	
	Pérou_exutoire	nd	nd	
	Saint-Denis	nd	nd	
	Pères_80m	nd	nd	
Spring water	Marigot	nd	nd	
	Captée	nd	nd	
	Marigot	nd	nd	
	Pérou	nd	nd	
	Captée	nd	nd	
Guadeloupe	Groundwater	Gendarmerie 1_1h	nd	nd
		Gendarmerie 1_24h	nd	nd
		Gendarmerie 1_48h	nd	nd
		Boulangerie_1h_bis	nd	nd
		Boulangerie_1h	nd	nd
		Boulangerie_24h	nd	nd
		Fromager	nd	nd
		Lacavé 2_24h	nd	nd
		Lacavé 2_48h	nd	nd
		Lacavé 2_1h	nd	nd
		Saint-Denis 2	nd	nd
		Gendarmerie 1	nd	nd
		Gendarmerie 2	nd	nd
		Boulangerie	nd	nd
		Fromager	nd	nd
Lacavé 2	nd	nd		
Saint-Denis 2	nd	nd		

Tableau S3.17. B3/B4 concentrations in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2) and LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1). na: not analyzed; nd: not detected

Type of water	Laboratories of Methods	Genoscope		LDA26		
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS	LLE-GC-MS/MS		
Martinique	River waters	Grand Galion	nd	na	nd	
		Base de Loisirs	nd	na	nd	
		La Digue	nd	na	nd	
River water	Pérou_exutoire	nd	nd	nd	nd	
	Pères_80m	nd	nd	nd	nd	
	Pérou_exutoire	nd	0.006	na	na	
	Saint-Denis	nd	nd	na	na	
	Pères_80m	nd	nd	na	na	
Spring water	Marigot	nd	nd	nd	nd	
	Captée	nd	nd	nd	nd	
	Marigot	nd	nd	na	na	
	Pérou	nd	0.08	na	na	
	Captée	nd	nd	na	na	
Guadeloupe	Groundwater	Gendarmerie 1_1h	0.013*	nd	0.023	
		Gendarmerie 1_24h	0.014*	nd	0.033	
		Gendarmerie 1_48h	0.010*	nd	0.033	
		Boulangerie_1h_bis	0.043 ± 0.007	0.020	na	
		Boulangerie_1h	0.056 ± 0.004	nd	0.076	
		Boulangerie_24h	0.031 ± 0.017	0.024	0.076	
		Fromager	0.010 ± 0.001	nd	na	
		Wells	Lacavé 2_24h	nd	nd	0.017
			Lacavé 2_48h	nd	nd	0.018
			Lacavé 2_1h	nd	nd	0.018
			Saint-Denis 2	nd	nd	nd
			Gendarmerie 1	nd	nd	na
		Gendarmerie 2	nd	nd	na	
		Boulangerie	0.043 ± 0.010	0.027	na	
		Fromager	0.012 ± 0.002	nd	na	
Lacavé 2	0.009 ± 0.002	nd	na			
Saint-Denis 2	nd	nd	na			

Tableau S3.18. Dieldrin concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 1) and LLE-GC-MS/MS (LDA26, n=1). na: not analyzed; nd: not detected; *: detected in one sample only, LDA26 uncertainties was set at 30 %

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope		LDA26
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS	LLE-GC-MS/MS
Martinique River waters	Grand Galion	nd	na	nd
	Base de Loisirs	nd	na	nd
	La Digue	0.039 ± 0.002	na	nd
River water	Pérou_exutoire	0.025 ± 0.011	nd	0.037
	Pères_80m	0.004 ± 0.001	nd	0.006
	Pérou_exutoire	0.036 ± 0.008	nd	na
	Saint-Denis	0.014 ± 0.002	nd	na
	Pères_80m	0.008 ± 0.002	0.009	na
Spring water	Marigot	nd	nd	nd
	Captée	nd	nd	nd
	Marigot	nd	nd	na
	Pérou	nd	nd	na
	Captée	nd	nd	na
Guadeloupe Groundwater	Gendarmerie 1_1h	0.053 ± 0.013	nd	0.093
	Gendarmerie 1_24h	0.091 ± 0.018	0.074	0.132
	Gendarmerie 1_48h	0.087 ± 0.004	0.078	0.131
	Boulangerie_1h_bis	0.010 ± 0.004	nd	na
	Boulangerie_1h	0.006 ± 0.003	nd	0.021
	Boulangerie_24h	0.004 ± 0.001	nd	0.017
	Fromager	0.003 ± 0.0002	nd	na
	Lacavé 2_24h	nd	nd	0.005
	Lacavé 2_48h	nd	nd	0.005
	Lacavé 2_1h	0.002 ± 0.0002	nd	0.005
	Saint-Denis 2	nd	nd	nd
	Gendarmerie 1	0.031 ± 0.004	nd	na
	Gendarmerie 2	0.246 ± 0.004	0.412	na
	Boulangerie	0.009 ± 0.006	nd	na
	Fromager	0.006 ± 0.0001	nd	na
Lacavé 2	0.003 ± 0.0002	nd	na	
Saint-Denis 2	nd	0.008	na	

Tableau S3.19. β -HCH concentrations (expressed in $\mu\text{g.L}^{-1}$) in environmental waters for both campaigns (colored boxes correspond to the second sampling campaign) obtained with SPME-GC-SIM-MS (Genoscope, n = 2), LLE-GC-MS (Genoscope, n = 1) and LLE-GC-MS/MS (LDA26, n=1). na: not analyzed; nd: not detected; LDA26 uncertainties was set at 30 %

Type of water	Laboratories Methods	Genoscope		BRGM	LDA26	
		SPME-GC-SIM-MS	LLE-GC-SIM-MS and LC-HRMS	LLE-GC-MS/MS	LLE-LC-MS/MS	LLE-GC-MS/MS
Martinique River waters	Grand Galion	+	-	-	+	+
	Base de Loisirs	+	-	-	+	+
	La Digue	+	-	-	+	+
River water	Pérou_exutoire	+	+	+	+	+
	Pères_80m	+	+	+	+	+
	Pérou_exutoire	+	+	+	-	-
	Saint-Denis	+	+	+	-	-
	Pères_80m	+	+	+	-	-
Spring water	Marigot	+	+	+	+	+
	Sarlaconne	-	-	+	+	+
	Captée	+	+	+	+	+
	Marigot	+	+	+	+ *	-
	Pérou	+	+	+	+ *	-
	Captée	+	+	+	-	-
Guadeloupe Groundwater Wells	Gendarmerie 1_1h	+	+	+	+	+
	Gendarmerie 1_24h	+	+	+	+	+
	Gendarmerie 1_48h	+	+	+	+	+
	Boulangerie_1h_bis	+	+	+	-	-
	Boulangerie_1h	+	+	+	+	+
	Boulangerie_24h	+	+	+	+	+
	Fromager	+	+	+	-	-
	Lacavé 2_24h	+	+	+	+	+
	Lacavé 2_48h	+	+	+	+	+
	Lacavé 2_1h	+	+	+	+	+
	Saint-Denis 2	+	+	+	+	+
	Gendarmerie 1	+	+	+	+ *	-
	Gendarmerie 2	+	+	+	+ *	-
	Boulangerie	+	+	+	+ *	-
	Fromager	+	+	+	+ *	-
	Lacavé 2	+	+	+	+ *	-
	Saint-Denis 2	+	+	+	+ *	-

Tableau S3.20. Summary of samples analyzed (+) or not analyzed (-) by Genoscope (2 extraction methods), BRGM and LDA26 (2 analytical methods). *: only CLD, CLDOH and A2 analyzed. Colors boxes represent: brown: 2nd sampling campaign, blue: analyzed by the three laboratories, green: analyzed by Genoscope and BRGM, purple: analyzed by Genoscope and LDA26 and grey: analyzed by BRGM and LDA26

Laboratories		Genoscope		BRGM	LDA26	
Type of water	Methods	SPME-GC-SIM-MS		LLE-GC-MS/MS	LLE-LC-MS/MS	
		Replicate 1	Replicate 2			
Martinique	River waters	Grand Galion	16/11/2022	27/07/2022	na	12/01/2022
		Base de Loisirs	16/11/2022	27/07/2022	na	12/01/2022
		La Digue	17/11/2022	27/07/2022	na	12/01/2022
River water	Pérou_exutoire	09/11/2022	07/07/2023	13/05/2022	26/04/2022	
	Pères_80m	10/11/2022	08/07/2023	13/05/2022	27/04/2022	
	Pérou_exutoire	10/11/2022	26/07/2023	22/10/2022	na	
	Saint-Denis	14/11/2022	07/07/2023	22/10/2022	na	
	Pères_80m	15/11/2022	26/07/2023	22/10/2022	na	
Spring water	Marigot	30/11/2022	12/07/2023	13/05/2022	26/04/2022	
	Sarlaconne	na	na	13/05/2022	26/04/2022	
	Captée	14/11/2022	11/07/2023	13/05/2022	26/04/2022	
	Marigot	15/11/2022	26/07/2023	22/10/2022	13/10/2022	
	Pérou	24/11/2022	11/07/2023	22/10/2022	13/10/2022	
	Captée	24/11/2022	11/07/2023	22/10/2022	na	
Guadeloupe	Groundwater	Gendarmerie 1_1h	30/11/2022	22/07/2023	09/06/2022	08/06/2022
		Gendarmerie 1_24h	29/11/2022	28/07/2023	09/06/2022	17/06/2022
		Gendarmerie 1_48h	29/11/2022	28/07/2023	09/06/2022	17/06/2022
		Boulangerie_1h_bis	30/11/2022	22/07/2023	03/08/2022	na
		Boulangerie_1h	28/11/2022	20/07/2023	13/05/2022	12/05/2022
		Boulangerie_24h	29/11/2022	20/07/2023	13/05/2022	12/05/2022
		Fromager	14/11/2022	13/07/2023	03/08/2022	na
		Lacavé 2_24h	15/11/2022	13/07/2023	13/05/2022	24/05/2022
	Wells	Lacavé 2_48h	01/12/2022	13/07/2023	09/06/2022	24/05/2022
		Lacavé 2_1h	01/12/2022	19/07/2023	13/05/2022	24/05/2022
		Saint-Denis 2	01/12/2022	12/07/2023	13/05/2022	26/04/2022
		Gendarmerie 1	25/11/2022	22/07/2023	22/10/2022	13/10/2022
		Gendarmerie 2	25/11/2022	28/07/2023	22/10/2022	13/10/2022
		Boulangerie	28/11/2022	20/07/2023	22/10/2022	13/10/2022
		Fromager	25/11/2022	19/07/2023	22/10/2022	13/10/2022
		Lacavé 2	24/11/2022	12/07/2023	22/10/2022	13/10/2022
Saint-Denis 2	28/11/2022	19/07/2023	22/10/2022	18/10/2022		

Tableau S3.21. Date of the analysis of environmental waters by Genoscope (n=2), BRGM and LDA26 (n=1). Brown boxes: 2nd sampling campaign, na : not analyzed.

Annexe S4. Informations supplémentaires de « Recherche d'un protocole d'analyse pour étudier le devenir de la chlordécone dans les sédiments de la James River »

1. Figures supplémentaires

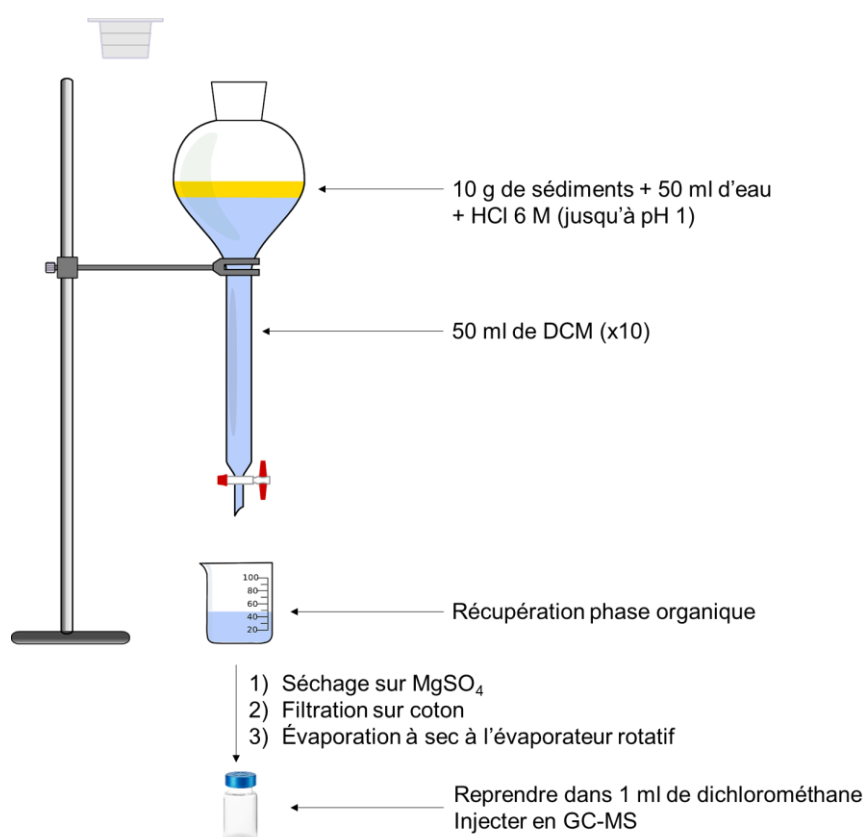


Figure S4.1 Schéma du protocole LLE utilisé pour extraire les sédiments de Martinique pour la recherche du chlordéconol (Della-Negra et al., 2020).

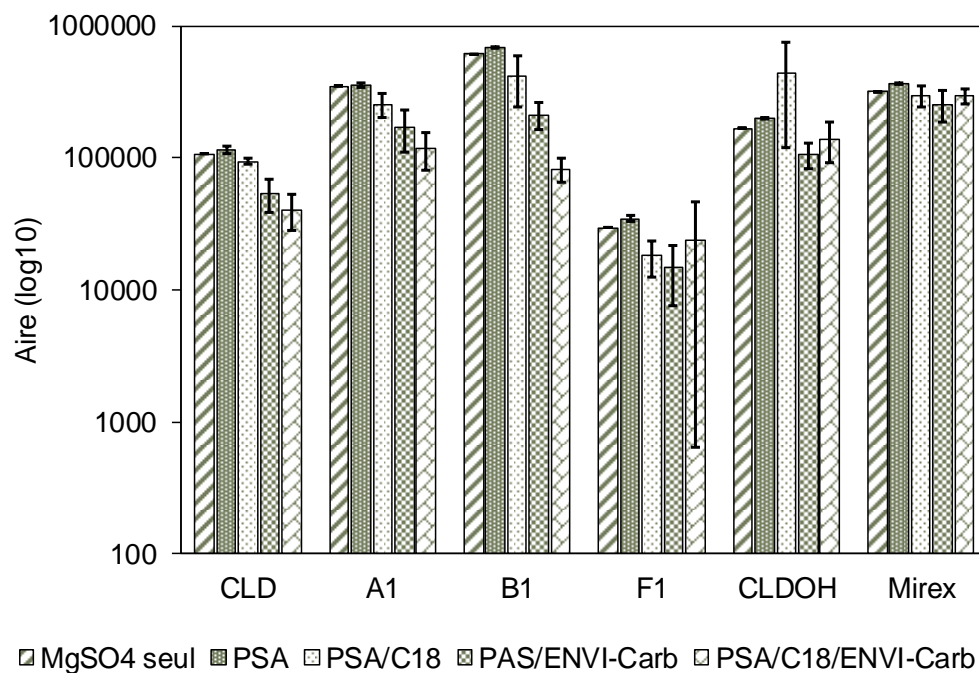


Figure S4.2. Réponse des composés (aire, log10) supplémentés à 100 µg.kg⁻¹ en fonction de la d-SPE utilisé. Protocole détaillé à la figure 4.8.



OPEN

Transformation of the recalcitrant pesticide chlordecone by *Desulfovibrio* sp.86 with a switch from ring-opening dechlorination to reductive sulfidation activity

Oriane Della-Negra^{1,2}, Sébastien Chaussonnerie^{1,2}, Nuria Fonknechten¹, Agnès Barbance¹, Delphine Muselet¹, Déborah E. Martin¹, Stéphanie Fouteau¹, Cécile Fischer¹, Pierre-Loïc Saaidi^{1,3}✉ & Denis Le Paslier^{1,3}✉

The insecticide chlordecone has been used in the French West Indies for decades, resulting in long term pollution, human health problems and social crisis. In addition to bacterial consortia and *Citrobacter* sp.86 previously described to transform chlordecone into three families of transformation products (A: hydrochlordecones, B: polychloroindenes and C: polychloroindenecarboxylic acids), another bacterium *Desulfovibrio* sp.86, showing the same abilities has been isolated and its genome was sequenced. Ring-opening dechlorination, leading to A, B and C families, was observed as previously described. Changing operating conditions in the presence of chlordecone gave rise to the formation of an unknown sulfur-containing transformation product instead of the aforementioned ones. Its structural elucidation enabled to conclude to a thiol derivative, which corresponds to an undocumented bacterial reductive sulfidation. Microbial experiments pointed out that the chlordecone thiol derivative was observed in anaerobiosis, and required the presence of an electron acceptor containing sulfur or hydrogen sulfide, in a confined atmosphere. It seems that this new reaction is also active on hydrochlordecones, as the 10-monohydrochlordecone A1 was transformed the same way. Moreover, the chlordecone thiol derivative called F1 was detected in several chlordecone contaminated mangrove bed sediments from Martinique Island, highlighting the environmental relevance of these results.

Chlordecone is a highly recalcitrant organochlorine pesticide that has been added to the Stockholm convention list of persistent organic pollutants in 2009. Several pest control products containing chlordecone (Kepone, Curlone) or a functionalized derivative (Kelevan) have been manufactured in the US, Brazil and France and applied in the Caribbean, Central America, West Africa, and Europe over an extended period of forty years¹. To date, chlordecone has caused two major environmental disasters: (1) acute exposure of workers at the Hopewell (US) chlordecone production plant in 1975 and massive pollution of the James River, extending over 100 miles that lasted for decades², (2) ongoing impregnation of the French West Indies (FWI) population due to extensive agricultural use of chlordecone from 1972 to 1993 that has resulted in long-term pollution of environmental compartments (soils, water resources, coastal areas) and subsequently of some local food production (vegetables, farmed animals, and seafood). Until now, no remediation strategy has been proven satisfactory in the FWI environment whereas the population has to deal with health troubles (increased risk of cancer, motor and cognitive development disorders in young children, premature births) and social difficulties (disappearance of local economy activities)¹.

¹Génomique Métabolique, Genoscope, Institut François Jacob, CEA, CNRS, Univ Evry, Université Paris-Saclay, 91057 Evry, France. ²These authors contributed equally: Oriane Della-Negra and Sébastien Chaussonnerie. ³These authors jointly supervised this work: Pierre-Loïc Saaidi and Denis Le Paslier. ✉email: plsaaidi@genoscope.cns.fr; denis@genoscope.cns.fr

In this context, chlordecone microbial degradation has been the focus of several studies: some *Pseudomonas aeruginosa* sp. as well as mixed cultures isolated from the Hopewell area in the 1980s exhibited significant aerobic dechlorination ability leading to mono- and dihydrochlordecones transformation products (TPs)³. Later on, the conversion of chlordecone into unknown polar and nonpolar TPs in the presence of the anaerobic archaea *Methanosarcina thermophila* at 50 °C was reported⁴. More recently, two bacterial consortia (86 and 92), isolated from microbial enrichment cultures from chlordecone-contaminated soils and wastewater treatment plant sludge, were able to transform chlordecone, under anoxic conditions, at room temperature. Several TPs were identified and grouped into three families: hydrochlordecones (family A), polychloroindenes (family B) and polychloroindene-carboxylic acids (family C)^{5,6}. TPs from families B and C that were predominant arose from a ring-opening dechlorination of the chlordecone bishomocubane cage. Metagenomic analysis of these consortia indicated the prevalence of *Citrobacter* and *Desulfovibrio* sp. genomes among the dozen of bacterial genomes sequenced. Two members of these consortia, *Citrobacter* sp.86 and *Citrobacter* sp.92 that were isolated, both degraded chlordecone resulting in the same TP profile. Reductive dehalogenases are key enzymes in halo-respiration^{7,8} and could be indicative of a dehalogenation process. Here no gene sequences related to these enzymes were detected neither in the metagenomic data nor in the isolated *Citrobacter* genomes⁵.

The mechanistic degradation pathways and the exact role of each bacterium remains to be elucidated. In the past, several *Desulfovibrio* sp. or other sulfate-reducing bacteria have been reported in microbial cultures degrading chlorinated compounds^{9–14}.

Herein, we report the isolation of *Desulfovibrio* sp.86 previously identified in chlordecone-degrading consortium 86⁵ and explore its capacity to transform chlordecone and other chlorinated derivatives. TPs from the B and C families as well TP A1 were detected in pure cultures of *Desulfovibrio* sp.86. Unexpectedly, other incubation conditions in presence of chlordecone gave rise to the formation of an unknown sulfur-containing TP instead of the aforementioned TPs. The elucidation of its structure allowed us to conclude to a thiol derivative. To the best of our knowledge, it corresponds to an unprecedented bacterial reductive sulfidation. This thiol derivative was detected in several chlordecone-contaminated mangrove bed sediments from the Martinique Island.

Results

Isolation of *Desulfovibrio* sp.86. Isolation of *Desulfovibrio* sp.86 was achieved from the chlordecone-degrading consortium 86⁵ using sulfate-reducing conditions. As bacterial consortium 86, able to transform chlordecone, was obtained from an enriched mineral medium (MM) named MM +⁵, supplemented with chlordecone, the main chemical composition was kept but electron donors and acceptors were modified. Several media formulations used to enrich sulfate-reducing bacteria utilize organic acids e.g. lactate, as carbon and energy sources (electron donor) and sulfate that is used as electron-acceptor for growth^{15–18}. In this context, pyruvate in the MM + liquid medium was replaced by lactate and sulfate was added (MMD liquid medium, see “Methods” section). The enrichment was spread on MMD agar and the brown vibrio-like bacterial colonies (observed under optical microscope) were purified further through two additional plate streakings (Fig. S1). An isolated bacterial strain was found to be identical to *Desulfovibrio* sp.86 from consortium 86 based on 100% identities of their 16S rRNA genes (1538 bp each).

Genome analysis of *Desulfovibrio* sp.86. The whole genome consists of a single 3,464,070 bp circular chromosome. CheckM analysis¹⁹ performed with 61 genomes and 284 lineages indicates that the genome belongs to the Deltaproteobacteria and CheckM Completeness is 100% (zero essential marker missing). The average G + C content for the DNA is 58.06%. A total of 3,342 coding DNA sequences (CDSs) were predicted for the chromosome, 4 pseudogenes and 10 miscellaneous RNAs (misc-RNA), 3 rRNA operons, and 54 tRNA genes.

The three 16S rRNA genes of *Desulfovibrio* sp.86 are identical. Their best BLAST hits (NCBI) were from uncultured *Desulfovibrio* sp. clones from Microbial Fuel Cells such as MFC63A04 (Genbank accession number: FJ823865; coverage 98%; identity 99,87%)²⁰. A phylogenetic tree using the available 16S rRNA of cultivable bacteria confirmed the similarities between *Desulfovibrio* sp.86 and *Desulfovibrio simplex* DSM4141 (Genbank 16S rRNA accession number: NR_117110; coverage 99%; identity 99, 22%; genomic sequence unavailable) (Fig. S2)²¹. At the genomic level, *Desulfovibrio* sp.86 ranks first with *Desulfovibrio desulfuricans* subsp. *desulfuricans* str. ATCC 27,774 genome (GenBank:NC_011883). Nevertheless, *Desulfovibrio* sp.86 shares only 1,408 genes (43%) with *D. desulfuricans* (over 80% amino acids identity and 80% alignment coverage). In addition, the average nucleotide identities (ANI) between *Desulfovibrio* sp.86 and sequenced *Desulfovibrio* genomes are lower than the 95% ANI cut-off value generally accepted for species delineation (Fig. S3)²². These results indicate that *Desulfovibrio* sp.86 is most probably a new species of the *Desulfovibrio* phylum. The presence of two superoxide dismutases and one catalase gene accounts for its relative oxygen tolerance. As expected, the *Desulfovibrio* sp.86 genome exhibits an extensive gene complement for sulfur metabolism, encompassing the sulfur respiration pathways with inorganic sources like sulfate, sulfite, bisulfite and tetrathionate as electron acceptors. Organic sulfur sources may be provided by fermentation products of sulfur biomass (sulfoquinovose of sulfoquinovosyl lipids) sulfoacetate, the sulfur non-proteogenic amino acid taurine via sulfoacetaldehyde, or alkanesulfonates²³.

***Desulfovibrio* sp.86 degrades chlordecone into known transformation products as well as an unexpected sulfur-containing compound.**

The chlordecone-degrading ability of the isolated *Desulfovibrio* sp.86 strain was investigated using GC-MS (Gas Chromatography Mass Spectrometry) and LC-HRMS (Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry) techniques in growth conditions successfully applied for *Desulfovibrio* sp.86 isolation (MMD liquid medium). Na₂S was used as reductant and an anaerobic N₂/H₂ (98/2; V/V) atmosphere was applied using a glove box system. These incubation conditions led to complete disappearance of the chlordecone signal in GC-MS and LC-HRMS, and resulted in similar GC-MS and

LC-HRMS TP profiles as those obtained with *Citrobacter* sp.86⁶: monohydrochlordecone A1, pentachloroindene B1, tetrachloroindenes B3-B4 and polychloroindene-carboxylic acids C1-C2 and C3-C4 (Fig. 1a,b). In the glove box system, bacterial cultures were performed using 100 mL glass vials with a hydrophobic porous film to enable gas exchange and avoid contamination. This incubation condition was considered as “renewed atmosphere” condition (RA). In this system, the atmosphere was regularly renewed with N₂/H₂ (98/2; V/V) and the box was not thermostatically controlled so the temperature varied between 25 and 33 °C. To better control growth and degradation conditions, *Desulfovibrio* sp.86 cultures were placed in MMD medium using 100 mL glass vials, sealed with butyl rubber septa, in an oven at 30 °C. Sealed vials were initially purged with N₂/H₂ (98/2; V/V) gas to insure anaerobiosis. This incubation condition was considered as “confined atmosphere” conditions (CA).

After six-week incubation with chlordecone, the pesticide was no longer detectable by the same analytical techniques. Concomitantly, a single unknown chlorinated compound named F1 appeared. It was detectable only through GC-MS (25.6 min) (Fig. 1c). Like in the previously reported chlordecone degradation cultures^{5,6}, the main chlordecone transformation appeared during the stationary phase (Fig. 1e). Since no visible chlorinated peak could be observed in LC-HRMS (Fig. 1d), we based the structural elucidation of F1 on the interpretation of GC-MS data (Fig. 1f). Assuming that the higher isotopic pattern centered at m/z 507.8 contained the molecular ion, we hypothesized two possible neutral formulae for F1, C₁₀Cl₁₀O₂H₂ and C₁₀Cl₁₀SH₂. In-source fragments were highly similar to those observed in polychlorinated bishomocubane-based structures including chlordecone, hydrochlordecones, chlordecol and mirex^{5,6,24}. Indeed, the isotopic patterns at m/z 201.0, 235.9 and 271.9 presumably arose from the known in-source bishomocubane retrocyclodimerization and corresponded to positively charged C₅-fragments. Comparison with isotopic simulations limited the possibility to the following radical ions: [C₅Cl_{3+n}SH₂]⁺, [C₅Cl_{5+n}]⁺ and [C₅Cl_{3+n}O₂H₂]⁺, with n=0,1. The latter bis-oxygenated generic formula turned to be highly unlikely since it required the presence of a gem-diol function or a gem-chlorohydrin moiety on the cyclopentenyl ring that had to resist the harsh GC chromatographic conditions (>200 °C). Instead, we concluded that a sulfur moiety, i.e. a thiol function, was probably present on the bishomocubane polycycle. We proposed for F1 the structure depicted in Fig. 2a and suggested the name chlordecthiol, the sulfur analogue of chlordecol (chlordecone alcohol).

Synthesis of the chlordecthiol standard and confirmation that transformation product F1 is identical to chlordecthiol.

In order to confirm the structure of F1, the standard chlordecthiol was chemically synthesized and fully characterized. To achieve chemical reductive sulfidation of chlordecone, two steps were needed. The first one consisted in the conversion of the gem-diol function of chlordecone in equilibrium with the corresponding ketone form^{20,25} into the sulfur analog, i.e. gem-thiol/thiocarbonyl moiety. To perform this step, phosphorus-containing sulfur reagents are generally applied^{26,27}. Here we used phosphorus decasulfide (P₁₀S₁₀) also called Berzelius reagent^{27,28} according to the protocol of Zaidi and coworkers who successfully synthesized camphorhiol²⁹ (Fig. 2a). The second step consisted in the reduction of the gem-thiol intermediate using NaBH₄. After purification, a white solid was obtained in an overall yield of 73% (Fig. 2a). 1D- and 2D-NMR analyses confirmed the chlordecthiol structure: (i) two ¹H signals integrating each for one proton and coupled together (δ 3.78 ppm, d, J=5.5 Hz and δ 2.01 ppm, d, J=5.5 Hz), with the one at δ 3.78 ppm correlated to a ¹³C signal shifted downfield (δ 55.1 ppm) in HSQC experiment that perfectly account for the CH moiety next to the thiol function and (ii) a total of six visible ¹³C signals reflecting the plane of symmetry conserved in the present bishomocubane structure (Fig. 2a, Figs. S19–23). Although in microbial transformation, F1 could not be detected using LC-HRMS tool in the developed conditions, a concentrated sample of the synthetic standard chlordecthiol provided a significant signal. The presence of a sulfur atom and the expected neutral formula C₁₀Cl₁₀SH₂ were confirmed (Fig. 2c,d), and the raw formulae C₁₀Cl₁₀O₂H₂ was ruled out (Fig. 2b). Lastly, GC-MS analysis demonstrated the perfect match (i.e., the same retention time of 25.6 min and same in-source mass spectra Fig. S6) between the synthetic standard and TP F1, thus definitely assigning it as chlordecthiol. Indeed, F1 represents the first member of a new family of chlordecone TPs possessing for the first time a sulfur atom.

The ability of *Desulfovibrio* sp.86 to degrade chlordecone transformation products. Compounds A1, B1, C1-C2 and F1 representative of the four families of TPs possibly formed in presence of *Desulfovibrio* sp.86 were synthesized according to chemical protocols previously reported⁶ and herein developed for F1. Each of them was incubated in presence of *Desulfovibrio* sp.86 cultures in conditions that were shown to promote reductive sulfidation (sealed vial; CA conditions) or dechlorination with ring-opening (open vial; RA conditions). Dual GC-MS and LC-HRMS monitoring of all samples was performed.

After one-month incubation under CA conditions, 10-monohydrochlordecone A1 was completely transformed into two unknown chlorinated compounds barely separated using GC-MS (retention times: 24.3 min F2 and 24.5 min F3, Fig. 3, Figs. S7–S11). They showed an identical in-source mass spectrum that was highly similar to the F1 fragmentation pattern (Fig. S8). All detected in-source fragments turned to possess one chlorine atom less than their analogues in F1 mass spectrum. Compounds F2 and F3 were thus assumed to be diastereoisomers of 10-monohydrochlordecthiol (Fig. 3c). This was confirmed by the chemical synthesis of the two 10-monohydrochlordecthiol standards from 10-monohydrochlordecone A1 using the procedure previously applied for the synthesis of chlordecthiol F1 (Figs. S24–27). These chemical standards had the same retention times (24.3 and 24.5 min) and the same mass spectra compared to the biological F2 and F3 (Fig. S8). TPs B1, C1-C2 and F1 remained unchanged even after six-month incubation with *Desulfovibrio* sp.86 under CA conditions.

After six-month incubation under RA conditions, chlordecthiol F1 was partially converted into 10-monohydrochlordecthiols F2 and F3, and two other unknown chlorinated species detected using GC-MS, named F4 (retention time: 17.9 min) and F5 (retention time: 26.6 min) (Fig. 3d, Fig. S12). None of these two compounds gave any detectable signal in LC-HRMS. GC-MS analysis enabled to propose C₁₀Cl₆SH₄ as raw formula for F4

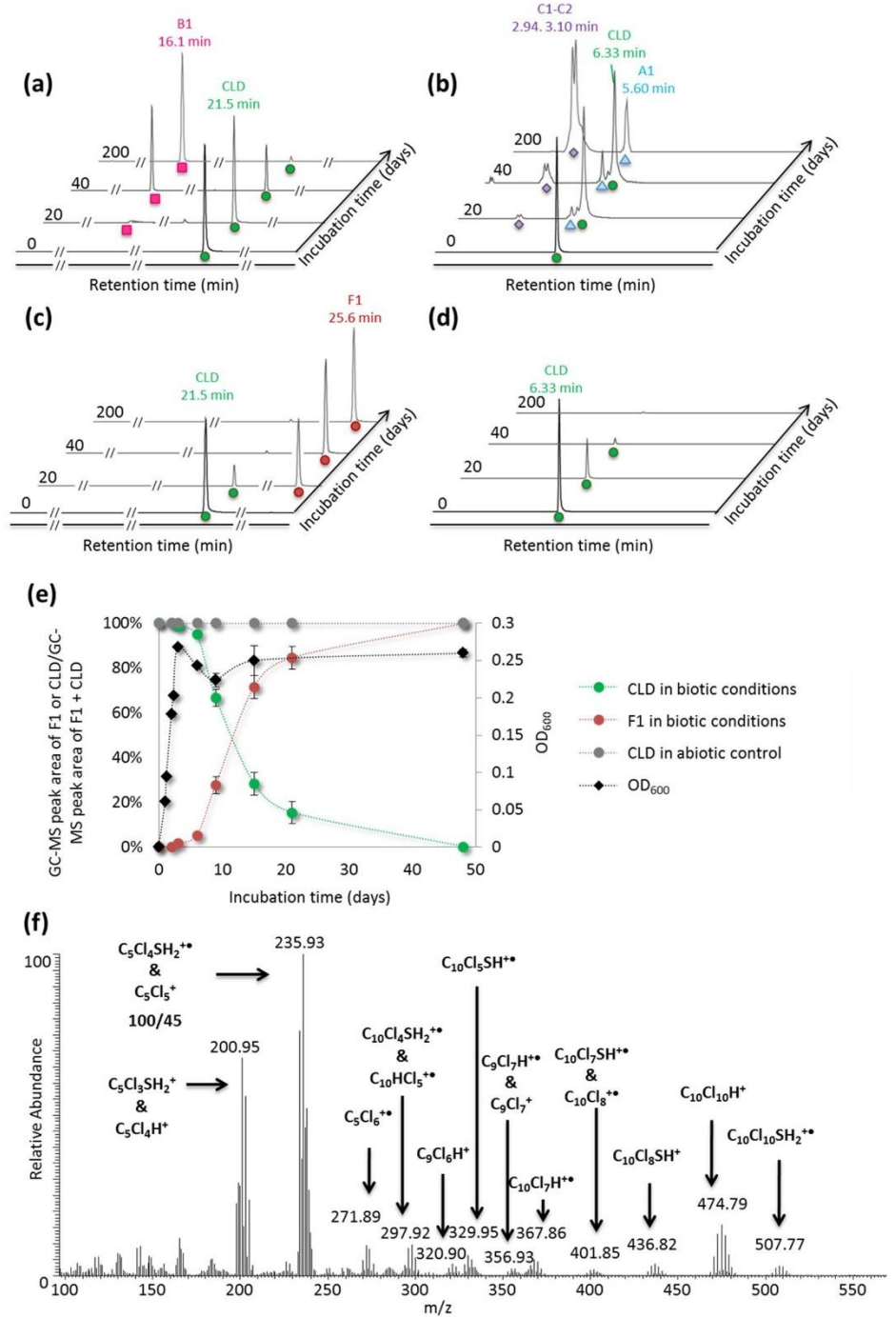


Figure 1. GC–MS and LC–HRMS monitoring, in full-scan mode (arbitrary unit), of chlordecone transformation by *Desulfovibrio* sp.86 in RA conditions (in glove box, anaerobiosis (N₂/H₂, 98/2, V/V), room temperature, open vials with a porous film, in MMD medium supplemented with 40 mg/L of chlordecone), and CA conditions (in oven, anaerobiosis (initially purged with N₂/H₂, 98/2, V/V), 30 °C, sealed vials, in MMD medium supplemented with 40 mg/L of chlordecone); and identification of TP F1. (a) GC–MS monitoring of chlordecone transformation by *Desulfovibrio* sp.86 in RA conditions. (b) LC–HRMS monitoring of chlordecone transformation by *Desulfovibrio* sp.86 in RA conditions. (c) GC–MS monitoring of chlordecone transformation by *Desulfovibrio* sp.86 in CA conditions. (d) LC–HRMS monitoring of chlordecone transformation by *Desulfovibrio* sp.86 in CA conditions. In each graph, green circles represent chlordecone, red circles F1, blue triangles 10-monohydrochlordecone A1, pink squares 2,4,5,6,7-pentachloroindene B1 and purple diamonds 2,5,6,7-tetrachloroindene carboxylic acid and 2,4,5,6-tetrachloroindene carboxylic acid C1–C2. In RA conditions traces of B3–B4 and C3–C4 TPs were also detected. (e) Chlordecone transformation over the time in CA conditions, OD₆₀₀ corresponds to the optical density at 600 nm in biotic conditions. (f) GC mass spectrum of F1 TP and its interpretation.

(Fig. S14), and C₁₁Cl₁₀SH₄ for F5 (Fig. S15). Methyl chlordecsulfide was chemically synthesized and fully characterized by NMR (Fig. S28–31). The perfect correspondence of GC retention times and GC mass spectra of methyl chlordecsulfide and biological F5 (Fig. S13) confirms its postulated identity. Noteworthy, the structure of F5 (Fig. 3d) represents a S-methylated form of F1. The exact nature of F4 remains to clear (see SI-Supplementary Text). All other TPs remained unchanged under RA conditions.

In summary, A1 (formed in RA conditions) underwent a reductive sulfidation just as chlordecone; under both incubation conditions polychloroindenes (B1 and C1–C2) did not seem to be degradable by *Desulfovibrio* sp.86, whereas F1 (produced under CA conditions) could be transformed under RA conditions (Fig. 3).

Investigation of the incubation conditions leading to bacterial reductive sulfidation. To question the physico-chemical or physiological parameters influencing the transformations pathways of chlordecone in the cultures of *Desulfovibrio* sp.86, GC–MS monitoring (B1 and F1 presence as evidences of RA and CA conditions, respectively) was chosen.

Two sulfur-containing inorganic compounds, the reductant Na₂S and the electron acceptor Na₂SO₄, were present in the original MMD liquid medium. A first series of experiments in sealed vials with substitution of Na₂S by other reducing agents, sulfured or not, i.e. cysteine and titanium(III) citrate (TiCi) led to a comparable level of chlordecthiol F1 (Table 1). Traces of TP B1 were also observed in all experiments, including Na₂S, the positive control (Table 1).

A second set of experiments was designed using Na₂S as reducing agent and alternative sulfur-based electron acceptors in sealed vials (Table 2). Use of 90% ³⁴S-enriched inorganic sulfate resulted in a chlordecthiol product showing similar ³⁴S-enrichment level (90% ³⁴S-F1/10% F1, Fig. S16). GC–MS analysis of culture headspace also revealed the presence of H₂³⁴S and H₃C³⁴SH (Fig. S16), thus showing that *Desulfovibrio* sp.86 produced H₂S from sulfate. These gas were detected in the culture headspace in CA conditions, using MMD medium, whereas they were absent from the culture headspace in RA condition that corresponded to the glove box atmosphere (Fig. S17). Absence of sulfate did not inhibit *Desulfovibrio* sp.86 growth, however it resulted in formation of B1 (Table 2)⁵. The replacement of sulfate by sulfite, bisulfite or thiosulfate led in all cases to the formation of chlordecthiol F1.

A third series of experiments using jars investigated the effect of the nature of the gas phase in contact with the culture. Between the RA condition using open vials in glove box and CA condition using sealed vials in oven, several parameters differed (atmosphere nature and volume, temperature). Using a jar system including several vials, we selectively study the effect of atmosphere renewal on chlordecone transformation by *Desulfovibrio* sp.86 in MMD medium. In each case, open vials with hydrophobic porous films were placed in jars initially purged with a selected gas. All the jars were incubated at 30 °C. Some of them were flushed several times, to mimic the glove box system, whereas others were kept closed.

Jars 1–4 contained two identical open vials filled with MMD, chlordecone and *Desulfovibrio* sp.86 inoculum, and one negative abiotic control. Among them, two jars were flushed twice a week, jar 1 with (N₂/H₂ (98/2; V/V)), jar 2 with N₂ (Fig. 4a), whereas jars 3 and 4, initially purged with N₂ and (N₂/H₂ (98/2; V/V)) respectively were left unflushed (Fig. 4b).

The last two jars (jar 5 and 6) contained three open vials filled with MMD, chlordecone and *Desulfovibrio* sp.86, plus one culture without sulfate. These jars were initially flushed with (N₂/H₂ (98/2; V/V)) and left unflushed for 2 months (Fig. 4c).

In parallel to the jars, two sealed vials filled with MMD without sulfate, chlordecone and *Desulfovibrio* sp.86 were flushed with extemporarily synthesized H₂S (Fig. S4).

After two-month incubation at 30 °C, TP B1 was detected in vials placed in the flushed jars 1 and 2 (Table 3a), whereas TP F1 was only found in vials placed in unflushed jars 3 and 4 (Table 3b). No TP were present in the abiotic controls. In jars 5 and 6, F1 was present in both sulfate and sulfate-free *Desulfovibrio* sp.86 open cultures (Table 3c). In the same way, *Desulfovibrio* sp.86 sulfate-free cultures, flushed with H₂S showed significant levels of F1 TP, whereas no transformation was observed in the negative control (Table 3d).

An additional chemical experiment was carried out to assess the influence of H₂S on chlordecone transformation. Classic chemical protocol enabling B and C TPs formation, was applied (chlordecone, titanium citrate, vitamin B₁₂, water). Under N₂ atmosphere, B and C TPs were obtained, however under H₂S atmosphere, only A1 was produced (Fig. S18).

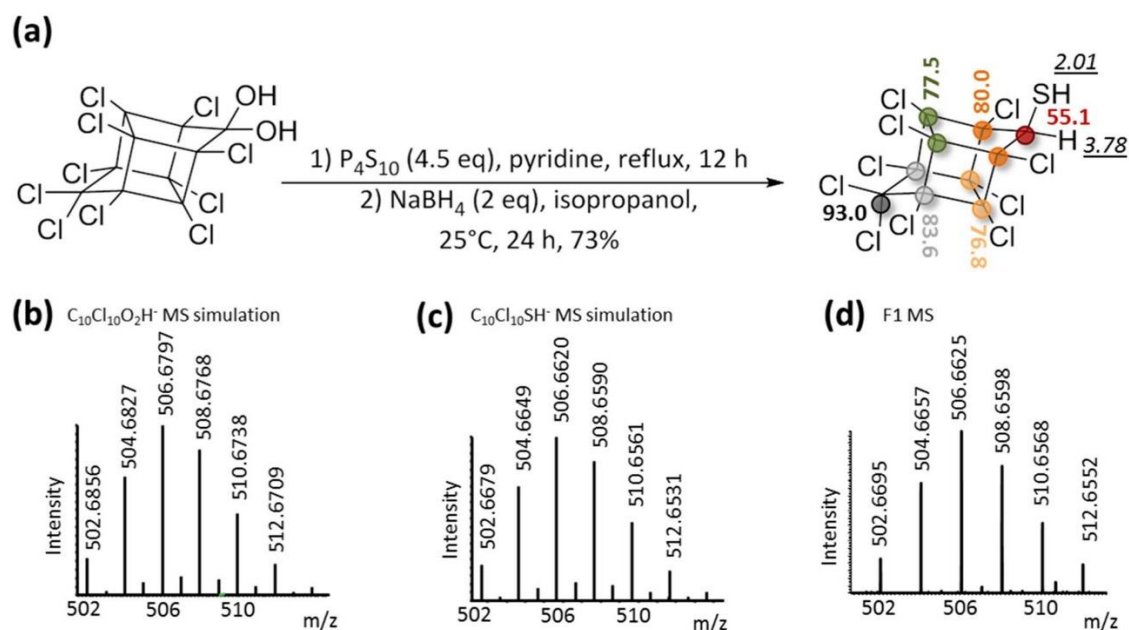


Figure 2. Synthesis of the chemical standard chlordecthiol and its complete characterization. (a) Chemical reaction scheme of chlordecthiol synthesis and NMR shifts in CD_2Cl_2 ; ^1H NMR shift, in italic and underlined and ^{13}C NMR shift, in bold; similarly colored circles indicate equivalent carbon atoms. (b) m/z simulation of $\text{C}_{10}\text{Cl}_{10}\text{O}_2\text{H}^-$; (c) m/z simulation of $\text{C}_{10}\text{Cl}_{10}\text{SH}^-$; (d) extracted high resolution mass spectrum of synthetic chlordecthiol in negative mode (LC-HRMS).

These results clearly show that the formation of chlordecthiol F1 requires a closed incubation system with a reducing atmosphere. However H_2 as the initial gas atmosphere is not mandatory whereas the presence of H_2S is required. Chemically, the presence of H_2S prevents from ring-opening dechlorination process.

Environmental relevance of chlordecone reductive sulfidation. We reinvestigated our previous collection of the Martinique Island chlordecone-contaminated environmental samples (eight soils and two bed sediments) in which various levels of chlordecone TPs had been reported⁶. Among the novel sulfur-containing TPs herein reported, we found appreciable levels of F1 in the two bed sediments samples (927 and 928) at a concentration estimated around $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ and $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ of wet sediment, respectively (Table S1). In parallel, bacterial population diversity data issued from metabarcoding analysis of these samples (Fig. 5, Fig. S5) were processed to recover a hierarchical clustering of environmental samples according to their taxonomic composition⁶. It was noticed that sulfate-reducing bacteria were much more present in bed sediments than in the other compartments, as previously reported^{30–32}.

Discussion

To date, the mechanism of chlordecone microbial transformation by ring-opening dechlorination process has not been reported, nor has any associated enzyme activity been described. Bacteria from the genus *Desulfovibrio* are indeed known to be part of consortia able to dechlorinate molecules like aromatic hydrocarbons^{32–35}. *Desulfovibrio* sp.86 is able to produce the same TPs of chlordecone as previously described^{5,6}. However, the only other complete genome of a chlordecone degrading organism is from a *Citrobacter* species. The large divergence between these two bacterial species at the level of genus, lifestyle and metabolism precludes a straightforward differential genomic approach searching for common genes to understand ring-opening dechlorination process at the level of the pathway. Even if a parsimonious hypothesis could invoke the same mechanism for chlordecone ring-opening dechlorination process in both species, additional isolated species and genomes are welcomed to give clues to this question.

In this work, we also report on the identification, in the presence of *Desulfovibrio* sp.86, of another chlordecone transformation product issued from a reduction process, the sulfured molecule which we named chlordecthiol and which had not been described so far. The sulfur metabolism of bacteria from the genus *Desulfovibrio* is versatile, and encompasses the use of various inorganic sulfur sources that eventually can be reduced to H_2S . The *Desulfovibrio* sp.86 gene content is consistent with the production of sulfide. In particular, under the experimental incubation conditions we used, reduction of sulfate from the mineral medium can be achieved by the sulfate and sulfite reductase genes.

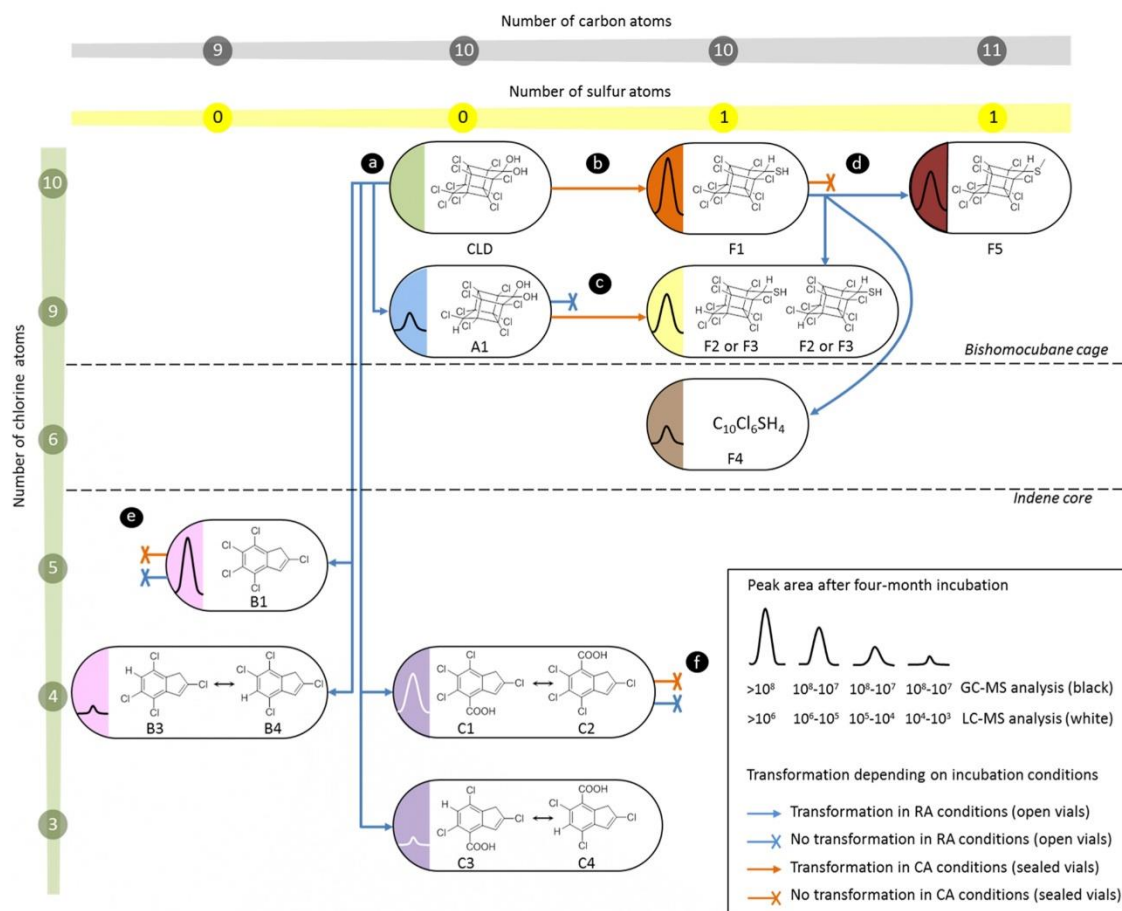


Figure 3. Fates of chlordecone transformation products with *Desulfovibrio* sp.86 depending on incubation conditions. (a) Transformation of chlordecone under RA conditions and (b) under CA conditions. Transformation of (c) A1, (d) F1, (e) B1 and (f) C1–C2.

Culture parameters			<i>Desulfovibrio</i> sp.86	TPs (relative GC-MS peak area ratio TP/TPs+CLD)		
Atmosphere	Reducing agent	Electron acceptor		CLD	B1	F1
N ₂ /H ₂ (98/2)	Na ₂ S	Na ₂ SO ₄	X	–	0.06	0.94
	Cysteine		X	1.00	–	
	TiCl (III)		X	0.17	0.03	0.79

Table 1. Influence of the reducing agent on chlordecone TP profile. GC-MS analysis of the two-month incubation extract: each TP peak area (full scan) was normalized to the sum of all peak areas (chlordecone and TPs).

The reductive sulfidation was also observed with the monohydrochlordecone A1 and then could be extrapolated to other hydrochlordecones. Remarkably, putting F1 in renewed atmosphere conditions essentially leads to sulfured analogs of F1 (F2 and F3), and the methylated derivative F5. This process generates a greater diversity of chlordecone TPs and extends the list of chlordecone derivatives that could be present in the environment. According to LC-HRMS analyses, F1 appeared less polar than chlordecone and chlordecol (Table S2). Indeed, its physico-chemical properties are likely to be different from those of chlordecone due to the replacement of the gem-diol fraction (chlordecone) by the thiol function (F1). The fate of F1 in the environment is therefore

Culture parameters			<i>Desulfovibrio</i> sp.86	TPs (relative GC-MS peak area ratio TP/TPs + CLD)		
Atmosphere	Reducing agent	Electron acceptor		CLD	B1	F1
N ₂ /H ₂ (98/2)	Na ₂ S	∅	X	0.51	0.49	–
		Na ₂ SO ₄	X	0.05	–	0.95
		Na ₂ SO ₃		1.00	–	–
		Na ₂ ³⁴ S	X	0.16	–	0.84
		Na ₂ SO ₃	X	0.09	–	0.91
		NaHSO ₃	X	0.46	–	0.54
		Na ₂ S ₂ O ₃	X	0.10	–	0.90

Table 2. Influence of the sulfur-based electron acceptor on chlordecone TP profile. GC-MS analysis of the two-month incubation extract: each TP peak area (full scan) was normalized to the sum of all peak areas (chlordecone and TPs).

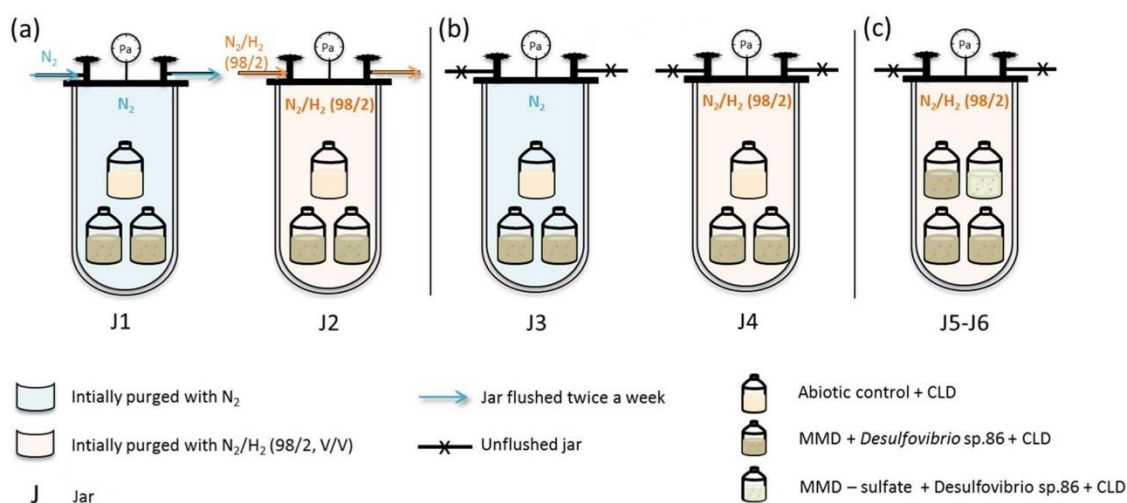


Figure 4. Schematic representation of gas-controlled experiments. (a) Flushed jars, (b) unflushed jars, (c) unflushed jars with sulfate-free *Desulfovibrio* sp.86 cultures.

Experiment no.	Culture parameters			<i>Desulfovibrio</i> sp.86	TPs (relative GC-MS peak area ratio TP/TPs + CLD)		
	Atmosphere	Reducing agent	Electron acceptor		CLD	B1	F1
(a) J1	N ₂ flush	Na ₂ S	Na ₂ SO ₄	X	0.86	0.14	–
(a) J2	N ₂ /H ₂ (98/2, V/V) flush			X	0.63	0.37	–
				X	1.00	–	–
(b) J3	N ₂			X	0.49	–	0.51
(b) J4	N ₂ /H ₂ (98/2, V/V)			X	0.45	–	0.55
				X	1.00	–	–
(c) J5	N ₂ /H ₂ (98/2, V/V)			Na ₂ SO ₄	X	0.24	–
		∅	X	0.55	–	0.45	
(d)	H ₂ S	∅	X	0.36	–	0.64	
			X	1.00	–	–	

Table 3. Influence of gas atmosphere on chlordecone TP profile. GC-MS analysis of the two-month incubation extract: each TP peak area (full scan) was normalized to the sum of all peak areas (chlordecone and TPs).

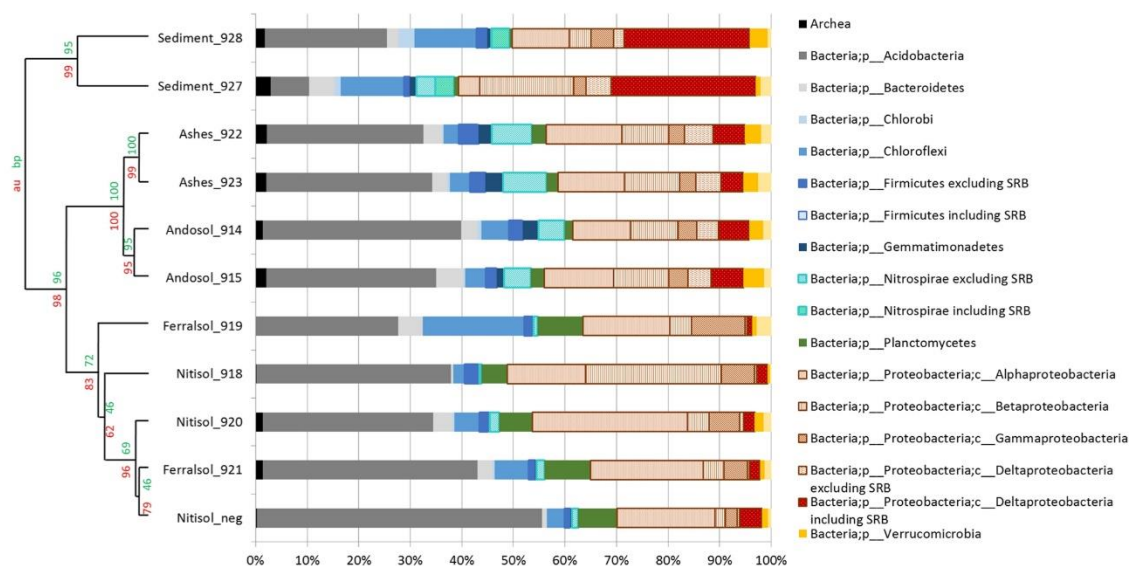


Figure 5. Dendrogram generated from hierarchical clustering of environmental samples according to the bacterial population diversity (from R package pvclust v. 1.3-2, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl117>). 200,000 sequences were taken for each environmental sample and normalized. The percentage of detected phyla was represented here with a focus on sulfate reducing bacteria from the *Deltaproteobacteria* class, Firmicutes and Nitrospirae phyla. In red is represented the unbiased (au) *p*-value and in green the bootstrap probability value (bp). SRB = Sulfate-reducing bacteria.

likely to be different in terms of biodegradability, stability, mobility to other environmental compartments and/or biomagnification along the food chain.

Sulfate reducing bacteria are frequently encountered in anaerobic environments like sediments where Fe(III) and sulfate dominate the pool of electron acceptor³⁴. Thus, the environmental relevance of chlordecone detection that we report herein in chlordecone-contaminated sediments from the French West Indies may originate from microbial processes. Moreover, our work in laboratory condition indicates that at least some TPs of chlordecone are also prone to reductive sulfidation (hydrochlordecones). Even if at this stage a large set of questions related to their appearance, persistence, trophic food-chain transfer and toxicological profile can only be envisioned, our results open a new window on the secondary contamination by chlordecone TPs as well as possible clues to its natural elimination.

Additionally, the change in the TP profile observed in our experiments with *Desulfovibrio* sp.86 under various conditions of sulfur donor and atmosphere (confined or renewed in anaerobic conditions) could indicate biochemical pathways blockade and/or promotion triggered by H₂S accumulation, leading to re-routing of chlordecone into this newly described reductive sulfidation instead of the previously reported ring-opening dechlorination TPs. At this stage, it is worth mentioning that all transformations of chlordecone with the consortium 86 had been conducted in open vials conditions, i.e. renewed atmosphere conditions. In a study related to dechlorination of trichlorofluoromethane by sulfate reducing bacteria, sulfide was proved to be inhibitory to the dehalogenation process³⁵.

Some papers mentioned that H₂S or HS⁻ can bind to metal centers and have an inhibitor effect on zinc and cobalt γ -class enzymes^{36,37}. It was suggested that corrinoids could play a role in chlordecone ring-opening dechlorination conditions⁵ and broadly, vitamin B₁₂, known to be a cofactor of reductive dehalogenases, can also intervene in the reductive dehalogenation processes as protein-free corrinoid^{38–40}, in both biotic⁴¹ and abiotic settings^{6,42}. In this work, we showed that vitamin B₁₂ combined with titanium citrate and chlordecone under N₂ atmosphere gave B and C families, whereas the same combination under H₂S atmosphere only led to A1 formation (Fig. S18). The weakness of the bond strength of cobalt with H₂O inducing a spontaneous reductive substitution of aquo-cobalamin(III) (Cbl(III)–H₂O) by sulfide-cobalamin(III) (Cbl(III)–S²⁻) in the presence of S²⁻ was reported⁴³. In the case of corrinoid implication in B and C families formation, it could be assessed that the presence of H₂S could also be inhibitory and thus favored F1 by another mechanism.

Reductive sulfidation of ketones and aldehydes are possible using a large variety of chemical protocols, very distant from physiological conditions²⁷. Several C–S bond formation are described, some mechanisms involve a glutathion-ester intermediate or a cysteine precursor to form thiol derivatives via nucleophilic reactions^{44,45}, others use radical SAM enzymes⁴⁵. Several enzymes known to catalyze sulfur addition reactions could take part in the reductive sulfidation of chlordecone. Among them thiolase, sulfurtransferase, sulfotransferase, sulfhydrylase and numerous Fe–S proteins are predicted in *Desulfovibrio* sp.86 genome. However, at this stage there is no clue enabling to suggest a mechanism and even to confirm an enzymatic activity toward chlordecone or TPs that were

shown to undergo reductive sulfidation in *Desulfovibrio* sp.86 cultures. Further experiments will be necessary to consider if any of these processes are indeed operating with *Desulfovibrio* sp.86.

Desulfovibrio sp.86 is the first sulfate-reducing bacterium known to date that is able to transform chlordecone, and only the second isolated and sequenced bacterial species coping with this pesticide. In this work, we reported for the first time on microbial reductive sulfidation, which occurred on substrates like chlordecone or hydrochlordecone. This raises the question of whether the microbial sulfidation process is restricted or not to these peculiar substrates, and whether it can be ascribed to the intrinsic sulfur-reducing ability of *Desulfovibrio* sp.86. In this respect, this new microbial strain, cultivated under our experimental conditions that promote reductive sulfidation, could provide a framework to investigate further this process with other natural or synthetic compounds. Finally, this study demonstrates that the way anaerobiosis is managed in the laboratory (e.g., renewed atmosphere in the glove box or atmosphere confined in sealed vials) is of critical importance for microbiological cultures as illustrated here by the change in the transformation pathways of chlordecone.

Methods

Chemicals and media. Chlordecone was obtained from Azur Isotopes (purity 98%). Na_2S ($\geq 98\%$), pyridine (99.8%), iodomethane ($> 99\%$) and phosphorus pentasulfide (99%) were purchased from Sigma Aldrich. Titanium (III) citrate was prepared from titanium (III) chloride ($> 12\%$ in HCl) (Sigma Aldrich) and sodium citrate and neutralized with Na_2CO_3 . Dichloromethane (DCM) and pentane (HPLC grade) were obtained from Fisher Chemical; cyclohexane (99.8%) and NMR solvents from Acros Organics; and acetonitrile (MeCN, LC-HRMS grade) and acetone ($> 99.9\%$) from VWR Chemicals. Chemical products used for microbiological media were obtained from Sigma Aldrich. Chemicals and media used for chlordecone TPs are described elsewhere⁶.

Analyticals. GC–MS analyses were carried out using a Thermo Fisher Focus GC coupled to a single-quadrupole mass spectrometer (Thermo Fisher DSQ II). The instrument was equipped with a non-polar $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ DB-5MS column (Agilent J&W) and a split/splitless injector. Ionization conditions and GC program were described elsewhere^{5,6}.

HS–GC–MS (Head Space Gas Chromatography Mass Spectrometry) analyses were performed on a Thermo Fisher Trace 1300 coupled to ISQ 7000 VPI single quadrupole mass spectrometer. The instrument was equipped with a $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ DB-624-UI column (Agilent J&W), a split/splitless injector and an automatic sampler TriPlus RSH coupled to a HeadSpace tool. For mass spectrometry (MS) analyses, the following standard working conditions were applied: electronic impact ionization, positive mode detection, ion source at $220\text{ }^\circ\text{C}$, detector voltage 70 eV , full scan mode m/z $33\text{--}300$ (scan time 0.20 s). Injection and transfer line temperatures were set up at $200\text{ }^\circ\text{C}$, respectively $280\text{ }^\circ\text{C}$. 1 mL was injected each time with a filling speed of 10 min/mL , an injection speed of 10 mL/min and a penetration speed of 10 mL/s .

For H_2S detection, vials were incubated for 1 min at $40\text{ }^\circ\text{C}$ and sampled with a syringe at $40\text{ }^\circ\text{C}$. The split mode was applied ($30\text{ }^\circ\text{C}$, flow rate at 16.7 mL/min , with a ratio of 33.4). The carrier gas was helium at 0.5 mL/min for 1 min followed by a gradient of 0.05 mL/min until reaching 1 mL/min (hold time 9 min). GC program was an isocratic at $24\text{ }^\circ\text{C}$ for 20 min .

LC–HRMS analyses were carried out using a Dionex Ultimate 3000 LC system coupled to an LTQ–Orbitrap Elite mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific) fitted with a heated electrospray ionization source (HESI) operating in negative ionization mode. Voltage optimization was described elsewhere⁵. Chromatographic separation was achieved using a Thermo Fisher Synchronis C18 column (50 mm length, 2.1 mm inner diameter, $1.7\text{ }\mu\text{m}$ particle size) and carried out at $30\text{ }^\circ\text{C}$ with a flow rate of 0.5 mL/min using NH_4OAc buffer (10 mM ; pH 7 adjusted with NH_4OH) as solvent A and MeCN as solvent B. The gradient started at 20% B for 1 min , followed by a linear gradient at 100% B for 7 min and remained 2 min at 100% B. The system returned to the initial solvent composition in 2 min and was re-equilibrated under these conditions for 2 min .

Organochlorine extraction for microbiological culture monitoring. After homogenization of the liquid culture, $500\text{ }\mu\text{L}$ of the turbid solution were collected and extracted twice using $250\text{ }\mu\text{L}$ isooctane. The combined organic layers were then analysed through GC–MS analysis. When HS–GC–MS was required, $700\text{ }\mu\text{L}$ of cultures were sampled and put into a Chromacol 10-HSV vial of 10 mL (Agilent). For LC–HRMS analysis, $50\text{ }\mu\text{L}$ of the turbid solution were collected, mixed with $200\text{ }\mu\text{L}$ of acetonitrile/ NH_4OAc buffer (10 mM ; pH 7 adjusted with NH_4OH) (V/V, $1/4$) and filtered on $0.22\text{ }\mu\text{m}$ filters.

Genomic DNA extraction, sequencing and analysis. DNA extraction was performed as described previously⁵.

Genome sequencing was performed mixing short and long reads (Illumina technology and Oxford Nanopore technology (ONT)). The Illumina and ONT data, around 280- and 20-fold coverage, respectively, were assembled using Unicycler (version: v0.4.6) (<https://cab.spbu.ru/software/spades/>) as described⁴⁶. The annotation and research of putative orthologous relations between genomes defined as gene couples satisfying the bi-directional best hit (BBH) criterion or a blastP alignment threshold with a minimum of 35% sequence identity on 80% of the length of the smallest protein was performed using the Microscope platform²².

The final annotated genome of *Desulfovibrio* sp.86 is available in GenBank/ENA under the accession number LR738849 and project number PRJEB35237.

Anoxic microbial incubations. In “renewed atmosphere” conditions, *Desulfovibrio* sp.86 cultures were incubated at $25\text{--}33\text{ }^\circ\text{C}$ (room temperature) in a glove box (Unilab mBraun) under anaerobic conditions (N_2/H_2 ($98/2$; V/V)). They were carried out in MMD medium consisting of an enriched mineral medium MM previ-

ously described⁵ supplemented with lactate as carbon source (20 mM), yeast extract (1 g/L), Na₂SO₄ (7 mM) and Na₂S as reducing agent (0.4 g/L). In the glove box, culture vials were open, equipped with a hydrophobic porous film (VWR, 114 µm thick, medical grade).

In “confined atmosphere” conditions, *Desulfovibrio* sp.86 cultures were incubated at 30 °C, in oven, under anaerobic conditions (N₂/H₂ (98/2; V/V)). They were carried out in MMD medium, in sealed culture vials, closed with butyl rubber septa.

Desulfovibrio sp.86 cultures were inoculated at the onset of an experiment with 0.5 mL pre-culture pre-grown in oven for 24 h.

During degradation reactions, the MMD medium was supplemented with 40 mg/L of chlordecone (from a solution of chlordecone at 200 mg/mL in dimethylformamide). Each experiment, tested condition or chlordecone degradation was done in duplicate, plus a negative control (without bacteria) in 100 mL glass serum vials containing 50 mL of mineral medium.

Anoxic microbial degradation of chlordecone with different reducing agents. *Desulfovibrio* sp.86 cultures were incubated in CA conditions with chlordecone. They were carried out in MMD medium. And when indicated the reducing agent (Na₂S, 0.4 g/L) was replaced by cysteine (1 g/L) or titanium citrate (0.38 mM).

Anoxic microbial degradation of chlordecone with different electron acceptors. *Desulfovibrio* sp.86 cultures were incubated in CA conditions with chlordecone. They were carried out in MMD medium. And when indicated the electron acceptor (Na₂SO₄, 7 mM) was replaced by Na₂³⁴SO₄, Na₂SO₃, NaHSO₃ or Na₂S₂O₃ (7 mM). Na₂³⁴SO₄ was ³⁴S enriched at 90%. For cultures containing Na₂SO₃ or Na₂³⁴SO₄, the gas volume contained in the vial was analysed after two-month incubation by HS-GC-MS analysis.

Gas-controlled chlordecone microbial degradation experiments. Six homemade anaerobic jars combined with a flushing system were used. Four jars contained two identical open 100 mL flasks filled with *Desulfovibrio* sp.86, chlordecone 40 mg/L, and MMD (50 mL), and one negative control flask with chlordecone (40 mg/L) and MMD (50 mL). Among these jars, two were flushed twice a week for 10 min, jar 1 with (N₂/H₂ (98/2; V/V)), jar 2 with N₂, whereas jar 3 initially purged with N₂ and 4, with (N₂/H₂ (98/2; V/V)) were left unflushed. Two extra jars (jars 5 and 6) contained three identical open 100 mL flasks filled with *Desulfovibrio* sp.86, chlordecone 40 mg/L, and MMD (50 mL), and one flask filled with *Desulfovibrio* sp.86, chlordecone (40 mg/L) and MMD pulling sulfate out (50 mL). These jars were initially purged with (N₂/H₂ (98/2; V/V)) and left unflushed. After two months incubation at 30 °C, all flasks were analyzed through GC-MS.

Degradation of chlordecone TPs by *Desulfovibrio* sp.86. All degradation experiments were carried in duplicate 100 mL vials filled with 50 mL MMD inoculated with an actively growing *Desulfovibrio* sp.86 culture (1/100; V/V) in duplicate and an abiotic control was included. Chlordecone TPs were added to a final concentration of 80 µM in each vials from a stock solution. Cultures were incubated in a glove box or/and in the oven and monitored by GC-MS and/or LC-HRMS.

Environmental samples extraction and analysis. Environmental samples origin and treatment were already described elsewhere⁶. They were collected on Martinique Island. Soil (2 andosol, 2 nitisol, 2 ferralsol soils and 2 ashes and 2 pumice stones) from the vicinity of the “Montagne Pelée” volcano and 2 bed sediment samples from Galion bay were taken from the 0–30 cm layer and conserved in glass boxes.

Dual chemical analysis of these samples (using GC-MS and LC-MS analysis) was already published elsewhere but without searching and taking into account the possible presence of sulfured TPs⁶. Samples were re-analysed and re-extracted according to the previously reported procedure⁶, to focus on sulfured chlordecone TPs. Each sample was processed in duplicate. For soils and sediments (10 g), 50 mL of milliQ water was added, followed by acidification to pH 1 with HCl (1 M) and vortexing. After decanting, the supernatant was extracted with DCM (10 × 50 mL) and the pellet washed twice with DCM (50 mL). Organic layers were pooled, concentrated *in vacuo*, and analyzed in duplicate injections by GC-MS (in dichloromethane). Soil sample from Martinique taken at a location known not to be contaminated with chlordecone (Nitolso_neg) was used as negative control, and was prepared and treated as mentioned above. GC-MS calibration curve was done using pure F1 compound in dichloromethane.

Soil biodiversity analysis was done on the previously described soil and bed sediment samples. The extraction protocol and the 16S rRNA gene pyrosequencing and analysis is described in Supplementary Information. Putative sulfate-reducing bacteria were assessed according to 16S rRNA sequences and according to the known sulfate-reducing bacteria already reported¹⁷. The list of families found in this analysis is given in Fig. S5. The dendrogram generated from hierarchical clustering of environmental samples was done using R package pvclust v. 1.3–2⁹⁷.

Chemical synthesis of F1 TP. Phosphorus pentasulfide (400 mg, 9.0 10⁻⁴ mol, 4.5 eq) was added to a solution of chlordecone (100 mg, 2.0 10⁻⁴ mol, 1 eq) in pyridine (20 mL). The reaction mixture was stirred under N₂, at reflux for 12 h. After cooling, 100 mL of pentane was added and the organic layer was successively washed with hydrochloric acid (2 M, 3 × 50 mL), distilled water and brine. Organic phase was dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure to give rise to an orange crude solid. To the crude solid, NaBH₄ (22 mg, 6.0 10⁻⁴ mol, 3 eq) was added in 2-propanol (10 mL). The reaction mixture was stirred under N₂, at room temperature, for 24 h. It was evaporated under reduced pressure and 10 mL of 5% H₂SO₄ was added. The acidic

solution was extracted with pentane (3 × 50 mL). The organic layer was then evaporated under reduced pressure and F1 TP was purified by PLC (Preparative Layer Chromatography; Merck, PLC Silica gel, 2 mm, F₂₅₄, 20 × 20) (cyclohexane/acetone 10:1; F1 retardation factor = 0.38). It was obtained as a white solid (73 mg; 1.4 × 10⁻⁴ mol; 73%).

Chemical synthesis of F2–F3 TPs. Phosphorus pentasulfide (200 mg, 4.5 × 10⁻⁴ mol, 4.5 eq) was added to a solution of A1 (50 mg, 1.1 × 10⁻⁵, 1 eq) in pyridine (10 mL). The reaction mixture was stirred under N₂, at reflux for 12 h. After cooling, 50 mL of pentane was added and the organic layer was successively washed with hydrochloric acid (2 M, 3 × 25 mL), distilled water and brine. Organic phase was dried over MgSO₄, and concentrated under reduced pressure to give rise to an orange crude solid. F2–F3 TP were purified by PLC (Preparative Layer Chromatography; Merck, PLC Silica gel, 2 mm, F₂₅₄, 20 × 20) (cyclohexane/acetone 10:1; F2–F3 retardation factors = 0.40); and obtained as white solids (13 mg; 2.8 × 10⁻⁶ mol; 26%).

Chemical synthesis of F5 TP. To a solution of F1 (20 mg, 4.0 × 10⁻⁵ mol, 1 eq) and K₂CO₃ (52 mg, 4.0 × 10⁻⁴ mol, 10 eq) in acetone (50 mL), iodomethane (24 μL, 3.9 × 10⁻⁴ mol, 10 eq) was added. The reaction mixture was stirred under N₂, in the dark, at room temperature, for 30 min. It was quenched with 50 mL of methanol and stirred for 15 min. After concentration under reduced pressure, the crude solid was purified by PLC (Preparative Layer Chromatography; Merck, PLC Silica gel, 2 mm, F₂₅₄, 20 × 20) (cyclohexane/acetone 10:1; F5 retardation factor = 0.71); and F5 was obtained as a white solid (18 mg; 3.5 × 10⁻⁵ mol; 53%).

Received: 16 March 2020; Accepted: 21 July 2020

Published online: 11 August 2020

References

1. Le Déaut, J. Y. & Procaccia, C. Les impacts de l'utilisation de la chlordécone et des pesticides aux Antilles: bilan et perspectives d'évolution. *OPEECST* **487** (2009).
2. Epstein, S. S. Kepone-hazard evaluation. *Sci. Total Environ.* **9**, 1–62. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(78\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(78)90002-5) (1978).
3. Orndorff, S. A. & Colwell, R. R. Microbial transformation of kepone. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 398–406 (1980).
4. Jablonski, P. E., Pheasant, D. J. & Ferry, J. G. Conversion of Kepone by *Methanosarcina thermophila*. *FEMS Microbiol. Lett.* **139**, 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08198.x> (1996).
5. Chaussonnerie, S. *et al.* Microbial Degradation of a Recalcitrant Pesticide: Chlordecone. *Front. Microbiol.* **7**, 2025. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02025> (2016).
6. Chevallier, M. L. *et al.* Natural chlordecone degradation revealed by numerous transformation products characterized in key French West Indies environmental compartments. *Environ. Sci. Technol.* **53**, 6133–6143. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06305> (2019).
7. Mayo-Gatell, X., Chien, Y., Gossett, J. M. & Zinder, S. H. Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. *Science* **276**, 1568–1571. <https://doi.org/10.1126/science.276.5318.1568> (1997).
8. Hug, L. A. *et al.* (2013) Overview of organohalide-respiring bacteria and a proposal for a classification system for reductive dehalogenases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Proc. Biol. Sci.* **368**, 20120322. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0322>.
9. Sun, B., Cole, J. R., Sanford, R. A. & Tiedje, J. M. Isolation and characterization of *Desulfovibrio dechloracetivorans* sp. nov., a marine dechlorinating bacterium growing by coupling the oxidation of acetate to the reductive dechlorination of 2-chlorophenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2408–2413. <https://doi.org/10.1128/aem.66.6.2408-2413.2000> (2000).
10. Boyle, A. W., Phelps, C. D. & Young, L. Y. Isolation from estuarine sediments of a *Desulfovibrio* strain which can grow on lactate coupled to the reductive dehalogenation of 2,4,6-tribromophenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 1133–1140 (1999).
11. Lin, X. Q. *et al.* Accelerated microbial reductive dechlorination of 2,4,6-trichlorophenol by weak electrical stimulation. *Water Res.* **162**, 236–245. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.068> (2019).
12. Liu, J. & Haggblom, M. M. Genome-guided identification of organohalide-respiring deltaproteobacteria from the marine environment. *mBio* <https://doi.org/10.1128/mBio.02471-18> (2018).
13. Trueba-Santiso, A. *et al.* Interspecies interaction and effect of co-contaminants in an anaerobic dichloromethane-degrading culture. *Chemosphere* **240**, 124877. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124877> (2020).
14. Wang, Q., Yang, M., Song, X., Tang, S. & Yu, L. Aerobic and Anaerobic Biodegradation of 1,2-Dibromoethane by a Microbial Consortium under Simulated Groundwater Conditions. *Int. Journal Environ. Res. Public Health* <https://doi.org/10.3390/ijerph16193775> (2019).
15. Postgate, J. R. Versatile medium for the enumeration of sulfate-reducing bacteria. *App. Microbiol.* **11**(3), 265–267 (1963).
16. So, C. M. & Young, L. Y. Isolation and characterization of a sulfate-reducing bacterium that anaerobically degrades alkanes. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**(7), 2969–2976. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.7.2969-2976.1999> (1999).
17. Muyzer, G. & Stams, A. J. M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Rev. Microbiol.* **6**(6), 441–454. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1892> (2008).
18. Nancucheo, I. *et al.* Solid and liquid media for isolating and cultivating acidophilic and acid-tolerant sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* <https://doi.org/10.1093/femsle/fnw083> (2016).
19. Parks, D. H. *et al.* CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res.* **25**, 1043–1055 (2015).
20. Borole, A. P., Mielenz, J. R., Vishnivetskaya, T. A. & Hamilton, C. Y. Controlling accumulation of fermentation inhibitors in biorefinery recycle water using microbial fuel cells. *Biotechnol. Biofuels* **2**, 7. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-2-7> (2009).
21. Yarza, P. *et al.* Sequencing orphan species initiative (SOS): Filling the gaps in the 16S rRNA gene sequence database for all species with validly published names. *Syst. Appl. Microbiol.* **36**, 69–73. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2012.12.006> (2013).
22. Vallenet, D. *et al.* MicroScope: an integrated platform for the annotation and exploration of microbial gene functions through genomic, pangenomic and metabolic comparative analysis. *Nucl. Acids Res.* **48**, D579–D589. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz926> (2020).
23. Cook, A. M. & Dengler, K. Dissimilation of the C2 sulfonates. *Arch. Microbiol.* **179**, 1–6. <https://doi.org/10.1007/s00203-002-0497-0> (2002).
24. Alley, E. G., Layton, B. R. & Minyard, J. P. Jr. Identification of the photoproducts of the insecticides Mirex and Kepone. *J. Agr. Food Chem.* **22**, 442–445. <https://doi.org/10.1021/jf60193a054> (1974).

25. Wilson, N. K. & Zehr, R. D. Structures of some Kepone photoproducts and related chlorinated pentacyclodecanes by carbon-13 and proton nuclear magnetic resonance. *The J. Org. Chem.* **44**, 1278–1282. <https://doi.org/10.1021/jo01322a020> (1979).
26. Cortes-Santiago, A., Navarrete-Lopez, A. M., Vargas, R. & Garza, J. Dissociation energy for the P2S2 ring in a family of thionation reagents and the corresponding chemical reactivity of separated species: a density functional theory analysis. *J. Phys. Org.* **30**, e3624. <https://doi.org/10.1002/poc.3624> (2017).
27. Murai, T. The Construction and Application of C=S Bonds. *Top. Curr. Chem. (Cham)* **376**, 31. <https://doi.org/10.1007/s41061-018-0209-0> (2018).
28. Ozturk, T., Ertas, E. & Mert, O. A Berzelius reagent, phosphorus decasulfide (P4S10), in organic syntheses. *Chem. Rev.* **110**, 3419–3478. <https://doi.org/10.1021/cr900243d> (2010).
29. Zaidi, J. H., Naeem, F., Khan, K. M., Iqbal, R. & Ullah, Z. Synthesis of dithioacetals and oxathioacetals with chiral auxiliaries. *Synth. Commun.* **34**, 2641–2653. <https://doi.org/10.1081/Scc-200025627> (2004).
30. Sanchez-Andrea, I., Stams, A. J., Hedrich, S., Nancucheo, I. & Johnson, D. B. Desulfosporosinus acididurans sp. nov.: an acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acidic sediments. *Extremophiles* **19**, 39–47. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0701-6> (2015).
31. Luek, J. L., Thompson, K. E., Larsen, R. K., Heyes, A. & Gonsior, M. Sulfate reduction in sediments produces high levels of chromophoric dissolved organic matter. *Sci. Rep.* **7**, 8829. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09223-z> (2017).
32. Jaekel, U., Zedelius, J., Wilkes, H. & Musat, F. Anaerobic degradation of cyclohexane by sulfate-reducing bacteria from hydrocarbon-contaminated marine sediments. *Front. Microbiol.* **6**, 116. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00116> (2015).
33. Song, J. *et al.* The microbial community responsible for dechlorination and benzene ring opening during anaerobic degradation of 2,4,6-trichlorophenol. *Sci. Total Environ.* **651**, 1368–1376. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.300> (2019).
34. Kenneke, J. F. & Weber, E. I. Reductive dehalogenation of halomethanes in iron- and sulfate-reducing sediments. 1. Reactivity pattern analysis. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 713–720. <https://doi.org/10.1021/es0205941> (2003).
35. Sonier, D. N., Duran, N. L. & Smith, G. B. Dechlorination of trichlorofluoromethane (CFC-11) by sulfate-reducing bacteria from an aquifer contaminated with halogenated aliphatic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 4567–4572 (1994).
36. Innocenti, A., Zimmerman, S., Ferry, J. G., Scozzafava, A. & Supuran, C. T. Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of the zinc and cobalt γ -class enzyme from the archaeon Methanosarcina thermophila with anions. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 3327–3331. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.03.101> (2004).
37. Cuevasanta, E., Möller, M. N. & Alvarez, B. Biological chemistry of hydrogen sulfide and persulfides. *Arch. Biochem. Biophys.* **617**, 9–25. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.09.018> (2017).
38. Bommer, M. *et al.* Structural basis for organohalide respiration. *Science* **346**, 455–458. <https://doi.org/10.1126/science.1258118> (2014).
39. Renpenning, J. *et al.* Combined C and Cl isotope effects indicate differences between corrinoids and enzyme (Sulfurospirillum multivorans PccA) in reductive dehalogenation of tetrachloroethene, but not trichloroethene. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 11837–11845. <https://doi.org/10.1021/es503306g> (2014).
40. Payne, K. A. *et al.* Reductive dehalogenase structure suggests a mechanism for B12-dependent dehalogenation. *Nature* **517**, 513–516. <https://doi.org/10.1038/nature13901> (2015).
41. Fetznier, S. & Lingens, F. Bacterial dehalogenases: biochemistry, genetics, and biotechnological applications. *Microbiol. Rev.* **58**, 641–685 (1994).
42. Schrauzer, G. N. & Katz, R. N. Reductive dechlorination and degradation of mirex and kepone with Vitamin B12. *Bioinorg. Chem.* **9**, 123–143. [https://doi.org/10.1016/s0006-3061\(00\)80285-9](https://doi.org/10.1016/s0006-3061(00)80285-9) (1978).
43. Kyung, D., Amir, A., Choi, K. & Lee, W. Reductive Transformation of Tetrachloroethene Catalyzed by Sulfide-Cobalamin in Nano-Mackinawite Suspension. *Ind. Eng. Chem. Res.* **54**, 1439–1446. <https://doi.org/10.1021/ie503605n> (2015).
44. Roland, A., Schneider, R., Razungles, A. & Cavelier, F. Varietal thiols in wine: discovery, analysis and applications. *Chem. Rev.* **111**, 7355–7376. <https://doi.org/10.1021/cr100205b> (2011).
45. Naowarajina, N. *et al.* Mini-review: ergothioneine and ovothiol biosyntheses, an unprecedented trans-sulfur strategy in natural product biosynthesis. *Biochemistry* **57**, 3309–3325. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b00239> (2018).
46. Fouteau, S. *et al.* Genome Sequence of Piezophilic Bacterium Desulfovibrio profundus Strain 500–1, Isolated from a Deep Sediment Layer in the Japan Sea. *Genome Announc.* <https://doi.org/10.1128/genomeA.01181-17> (2017).
47. Suzuki, R. & Shimodaira, H. Pvclust: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. *Bioinformatics* **22**, 1540–1542. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl117> (2006).

Acknowledgements

Support was provided by Commissariat à l’Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA), the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) and the University Evry Val d’Essonne (UEVE). ODN work was supported by the "IDI 2017" project funded by the IDEX Paris-Saclay, ANR-11-IDEX-0003-02 and DEM work by a PhD studentship from the University Paris-Saclay (UEVE). We also thank Olek Maciejak for assistance in NMR data collection. UEVE is acknowledged for NMR and GC-MS facilities, and The Region Ile de France and CNRS for their contributions to NMR equipment. The LABGeM (CEA/Genoscope & CNRS UMR8030), the France Génomique and French Bioinformatics Institute national infrastructures (funded as part of Investissement d’Avenir program managed by Agence Nationale pour la Recherche, contracts ANR-10-INBS-09 and ANR-11-INBS-0013) are acknowledged for support within the MicroScope annotation platform.

Author contributions

O.D.-N., S.C., P.-L.S. and D.L.P. conceived the project. O.D.N., S.C., A.B., D.E.M., D.M. performed the experiments. O.D.N., S.C., N.F., S.F., C.F., P.-L.S., and D.L.P. analysed the results. O.D.N., S.C., C.F., P.-L.S. and D.L.P. wrote the paper. All authors read and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary information is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70124-9>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to P.-L.S. or D.L.P.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020

3. Tableaux supplémentaires

	Coordonnées GPS	Taux de sédimentation	Longueur de la carotte
Carotte n°1	N 37°00'853" E 76°30'791"	1 cm/an	3 m
Carotte n°2	N 37°03'011" E 76°36'490"	7 cm/an	2.8 m
Carotte n°3	N 37°05'221" E 76°38'488"	7 cm/an	3 m
Carotte n°4	N 37°14'320" E 76°55'129"	4 cm/an	3 m
Carotte n°5	N 37°13'580" E 76°55'129"	4 cm/an	2.7 m
Carotte n°6	N 37°10'643" E 76°46'174"	nd	2.2 m

Tableau S4.1. Localisation et paramètres des six carottes de sédiments de la James River

Carotte n°1	Carotte n°2	Carotte n°3	Carotte n°4	Carotte n°5	Carotte n°6
1-000-004	2-000-004	3-000-004	4-000-004	5-000-004	6-000-004
1-016-020	2-016-020	3-016-020	4-016-020	5-016-020	6-016-020
1-032-036	2-032-036	3-032-036	4-032-036	5-032-036	6-032-036
1-048-052	2-048-052	3-048-052	4-048-052	5-048-052	6-048-052
1-060-064	2-060-064	3-060-064	4-060-064	5-060-064	6-060-064
1-070-074	2-070-074	3-070-074	4-070-074	5-070-074	6-070-074
1-080-084	2-080-084	3-080-084	4-080-084	5-080-084	6-080-084
1-090-094	2-090-094	3-090-094	4-090-094	5-090-094	6-090-094
1-100-104	2-100-104	3-100-104	4-100-104	5-100-104	6-100-104
1-120-124	2-120-124	3-120-124	4-120-124	5-120-124	6-120-124
1-140-144	2-140-144	3-140-144	4-140-144	5-140-144	6-140-144
1-160-164	2-160-164	3-160-164	4-160-164	5-160-164	6-160-164
1-180-184	2-180-184	3-180-184	4-180-184	5-180-184	6-180-184
1-200-204	2-200-204	3-200-204	4-200-204	5-200-204	6-200-204
1-215-219	2-215-219	3-215-219	4-215-219	5-215-219	6-215-219
1-230-234	2-230-234	3-230-234	4-230-234	5-230-234	
1-245-249	2-245-249	3-245-249	4-244-249	5-245-249	
1-260-264	2-260-264	3-260-264	4-260-264	5-260-264	
1-275-279	2-275-279	3-275-279		5-275-279	
	2-290-294	3-290-294		5-290-294	

Tableau S4.2. Nomenclature des différentes sections des six carottes de sédiments prélevées dans la James River reçues au Genoscope

Composé	Formule brute	Polarité	<i>m/z</i> de quantification	<i>m/z</i> de qualification
CLD	C ₁₀ Cl ₁₀ O ₂ H ₂	faiblement polaire	272 / 274	237
A1	C ₁₀ Cl ₉ O ₂ H ₃	faiblement polaire	238	236
B1	C ₉ Cl ₅ H ₃	apolaire	253	288
CLDOH	C ₁₀ Cl ₁₀ OH ₂	faiblement polaire	220	218
F1	C ₁₀ Cl ₁₀ SH ₂	apolaire	236	475
Mirex	C ₁₀ Cl ₁₂	faiblement polaire	272	237
PCB	C ₆ Cl ₅ H	apolaire	250	215

Tableau S4.3 Caractéristiques des composés étudiés pour le développement de la méthode d'extraction des sédiments de la James River.

Profondeurs (cm)	Aire brute
6-160-164	nd
6-140-144	nd
6-120-124	nd
6-100-104	8.10 ³
6-090-094	nd
6-080-084	nd
6-070-074	nd
6-060-064	nd
6-048-052	1.10 ⁴
6-032-036	nd
6-016-020	7.10 ³
6-000-004	9.10 ³

Tableau S4.4. Aire de CLDOH (*m/z* 220) recherché dans les différentes sections des sédiments de la carotte n°6 analysées à la suite par une méthode QuEChERS-SPME-GC-SIM-MS. nd : non détecté.

Paramètres testés	Conditions testées	Masse de sédiment	Composés	Temps de contact	Eau	Solvant	pH	Sels QuEChERS
Solvant extraction	ACN H/A (85:15)	2g	CLD, CLDOH, A1, B1, F1, mirex	1 h	8 ml	Condition testée	3.5	10 g MgSO ₄ , 1 g NaCl, 1.8 g Na-citrate
pH et sels QuEChERS	+/- HCl 6 M +/- Na-citrate	2g	CLD, CLDOH, A1, B1, F1, mirex	1 h	8 ml	ACN	Condition testée	Condition testée
Masse de sédiments	2 g 6 g	Condition testée	CLD, CLDOH, A1, B1, F1, mirex	1h	8 ml	ACN	3.5	10 g MgSO ₄ , 1 g NaCl, 1.8 g Na-citrate

Tableau S4.5. Paramètres appliqués pour chaque paramètre testé pendant le développement du protocole d'extraction QuEChERS.

Méthode	CLD	A1	CLDOH
QuEChERS-SPME-GC-SIM-MS	17	12	1
QuEChERS-SPE-SPME-GC-SIM-MS	2	3	2

Tableau S4.6. Facteur de vieillissement de A1, CLD et CLDOH suite à une analyse d'un extrait de sédiments ayant subi un extraction QuEChERS-SPE-SPME ou QuEChERS-SPME.

Titre : Nouvelles méthodes d'analyses de la CLD et de ses produits de transformation afin de comprendre les capacités du vivant à dégrader ce pesticide récalcitrant

Mots-clés : Chimie analytique, pesticide, chlordécone, produits de transformation, GC-MS, LC-MS

Abstract : La chlordécone (CLD, C10Cl10O2H2) est un pesticide organochloré utilisé massivement aux Antilles françaises de 1972 à 1993. Les propriétés physico-chimiques de la CLD lui confèrent une faible solubilité dans l'eau, une grande hydrophobicité et un caractère persistant dans l'environnement. Des concentrations supérieures au mg/kg dans le sol et aux seuils de potabilité et de potabilisation des eaux (0.1 µg/L et 0.5 µg/L) sont encore retrouvées. Sa bioconcentration tout au long de la chaîne alimentaire engendre une contamination de la population antillaise ayant des conséquences sanitaires importantes dues à la toxicité chronique avérée de la CLD chez l'Homme. Récemment, plusieurs équipes ont réussi à dégrader la CLD de manière chimique et microbiologique formant différents produits de transformation (PTs) répartis en 7 familles. Plus de 20 PTs ont été détectés dans des échantillons environnementaux montrant qu'une dégradation naturelle de la CLD était déjà en cours. La quantification des PTs de la CLD revêt une importance capitale à la fois pour évaluer la pollution de l'environnement, pour étudier les conditions les plus propices à la dégradation naturelle de la CLD mais aussi pour optimiser les procédés de (bio)remédiation. Mon travail de thèse a consisté à mettre au point de nouveaux protocoles d'analyse simples, rapides et robustes pour détecter et quantifier les diverses familles de PTs de la CLD dans différentes matrices. Plusieurs méthodes d'extraction ont été retenues selon la nature de l'échantillon. Pour les eaux de surface et souterraines, un protocole SPME (Solid Phase Micro Extraction) a été développé pour l'analyse de la CLD, de ses PTs, mais aussi d'autres organochlorés présents aux Antilles. Un essai de comparaison inter-laboratoire avec 2 autres laboratoires qui appliquaient des protocoles d'extraction et d'analyse différents (par exemple, l'extraction liquide-liquide) ont permis de valider notre méthode SPME sur 30 échantillons d'eau environnementaux.

Cette étude a montré que des efforts analytiques restaient à accomplir pour l'analyse fiable de certains PTs. La méthode QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe) a été retenue pour sa simplicité de mise en œuvre, son faible coût et sa rapidité sur deux matrices : des digestats issus de la méthanisation de déchets organiques contaminés à la CLD et des sédiments de la James River (USA) polluée à cause de rejets massifs de l'usine de production de la CLD. Le protocole optimisé pour les digestats méthanogènes nous a permis de montrer la dégradation très significative de la CLD en condition méthanogène thermophile. Pour la 1ère fois, grâce à la méthode QuEChERS, le suivi quantitatif de la formation des PTs a été réalisé, apportant un nouvel éclairage sur cette biotransformation. Ce résultat ouvre la voie à une adaptation de cette stratégie de remédiation aux Antilles. Il faudra alors adapter le protocole pour atteindre les concentrations réelles (< 10 µg/L). Pour les sédiments de rivière, l'objectif était de mesurer des niveaux de concentration environnementaux encore plus bas (≤ 1 µg/kg). Cela nécessitait le développement d'un protocole combiné d'extraction-purification-concentration. Différentes techniques ont été étudiées : l'extraction QuEChERS, la purification par SPE (Solid Phase Extraction), et la SPME. A ce stade, les résultats prometteurs obtenus nécessitent encore d'être finalisés pour aboutir à un protocole adapté au cahier des charges fixé pour cette matrice complexe.

Les protocoles d'analyse de la CLD et ses PTs développés durant ma thèse ont pour avantages d'être plus simples, plus rapides, plus vertes et moins onéreux que les méthodes déjà utilisées pour la CLD. Ce travail devra bien sûr être complété par une étude de la toxicité de chaque type de PTs. Ensemble, ces connaissances seront essentielles à la fois pour l'évaluation complète de la pollution en devenir mais aussi pour le développement de stratégie de remédiation efficaces.

Title : New analytical methods for CLD and its transformation products, to understand living organisms' ability to degrade this recalcitrant pesticide

Keywords : Analytical chemistry, pesticide, chlordecone, transformation products, GC-MS, LC-MS

Chlordecone (CLD, C10Cl10O2H2) is an organochlorine pesticide used extensively in the French West Indies (FWI) from 1972 to 1993. Physico-chemical properties of CLD render it poorly soluble in water, highly hydrophobic and persistent in the environment. Concentrations above 1 mg/kg in FWI soil and above potability and potabilization limits (0.1 µg/L and 0.5 µg/L) in environmental waters from FWI are still found. Its bioconcentration throughout the food chain leads to contamination of the FWI population, with major health consequences due to CLD chronic toxicity in humans. Recently, several research teams have succeeded in chemically and microbiologically degrading CLD into various transformation products (TPs), which have been identified and classified into 7 families. More than 20 TPs have been detected in environmental samples, demonstrating the existence of an active natural degradation of CLD in FWI. Quantifying CLD TPs is therefore of paramount importance for assessing environmental pollution, investigating the most favorable conditions to induce natural CLD degradation and optimizing (bio)remediation processes.

My PhD research work consisted in developing new, simple, rapid and robust analytical protocols for detecting and quantifying the various families of CLD TPs in different matrices. Several extraction methods were selected, depending on the nature of the sample. For surface water and groundwater, a Solid Phase Microextraction (SPME) protocol was developed for the analysis of CLD and its TPs, as well as other organochlorines known to be present in the FWI. An interlaboratory trial was organized with two other laboratories that used different extraction and analysis protocols (e.g. liquid-liquid extraction) validated our SPME method on 30 environmental rivers. This study highlighted the fact that additional analytical efforts are

still required to accurately analyze several CLD TPs. The QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe) method was selected for its ease of use, low cost and fast operation for 2 matrices: digestates from the methanization of organic waste contaminated with CLD and sediments from the James River (USA) polluted by massive emissions from the CLD production plant at Hopewell. The analytical protocol optimized for the methanogenic digestates enabled to demonstrate the highly significant degradation of CLD in thermophilic methanogenic conditions. For the first time, the use of the QuEChERS method allowed the quantitative monitoring of TPs formation, shedding new light on this particular biotransformation. This result paves the way for transferring this remediation strategy to the FWI. It will be necessary to adapt the analytical protocol to achieve field concentration levels (< 10 µg/L). Analysis of James River sediments required lowering the detection limit to 1 µg/kg or even lower. It meant developing a protocol combining extraction, purification and concentration steps. For this purpose, several techniques were examined: QuEChERS extraction, SPE (Solid Phase Extraction) purification and SPME. At this stage, the promising results obtained needed to be completed in order to obtain an analytical protocol perfectly suited for the performance required on this complex matrix.

The protocols for analyzing CLD and its TPs developed during my PhD work are simpler, faster, greener and less expensive than the methods already used for the analysis of CLD. The present work must obviously be complemented by a toxicological study of each type of CLD TPs. Together, these insights will be essential both for a complete assessment of the pollution in progress, and for the development of effective remediation strategies.