

THÈSE DE DOCTORAT DE

ONIRIS, École Nationale Vétérinaire Agroalimentaire et de l'Alimentation
Nantes-Atlantique, Comue Université Bretagne Loire

ÉCOLE DOCTORALE N° 605 *Biologie Santé (ED BS, France)*
Spécialité : *Épidémiologie, Analyse de Risque, Recherche Clinique*
ÉCOLE DOCTORALE *Sciences et Technologie (ED ST, Liban)*
Spécialité : *Chimie analytique*

Par **Inas Abdel Malak**

« Développement d'une stratégie analytique dédiée aux Dechloranes

Contribution à l'évaluation de l'exposition alimentaire de l'homme à ces contaminants persistants et émergents »

Thèse en cotutelle internationale présentée et soutenue à Nantes, le 29 Novembre 2018
Unités de recherche : Oniris-LABERCA, France et Université Libanaise-LACO, Liban
Thèse N° : 2018ONIR117F

Rapporteurs avant soutenance :

DELÉPÉE Raphaël Professeur, Université de Caen Normandie, France
DEBRAUWER Laurent Docteur, HDR, IR INRA Toulouse, France

Composition du Jury :

Président	HERRENKNECHT Christine	Professeur, Université de Nantes, France
Examineurs	DELÉPÉE Raphaël	Professeur, Université de Caen Normandie, France
	DEBRAUWER Laurent	Docteur, HDR, IR INRA Toulouse, France
	HERRENKNECHT Christine	Professeur, Université de Nantes, France
	LABADIE Pierre	Docteur, HDR, CR CNRS Bordeaux, France
Co-Directeurs de thèse	JABER Farouk	Professeur, Université Libanaise-LACO, Liban
	CARIOU Ronan	Docteur, HDR, Oniris-LABERCA, France

Invité(s)

Membre invité DERVILLY-PINEL Gaud Docteur, HDR, Oniris-LABERCA, France

THESE de doctorat en Cotutelle
Pour obtenir le grade de Docteur délivré par
L'Université Libanaise
L'Ecole Doctorale des Sciences et Technologie

Spécialité : Chimie analytique

Présentée et soutenue publiquement par

ABDEL MALAK Inas

Le 29 Novembre 2018

Développement d'une stratégie analytique dédiée aux

Dechloranes :

Contribution à l'évaluation de l'exposition alimentaire de

l'homme à ces contaminants persistants et émergents.

Co-directeur de thèse : **JABER Farouk**

Co-directeur de thèse : **CARIOU Ronan**

Membre du Jury

M. Raphaël DELÉPÉE, Professeur, Université de Caen Normandie, France

M. Laurent DEBRAUWER, Docteur, HDR, IR INRA Toulouse, France

Mme Christine HERRENKNECHT, Professeur, Université de Nantes, France

M. Pierre LABADIE, Docteur, HDR, CR CNRS Bordeaux, France

M. Farouk JABER, Professeur, Université Libanaise-LACO, Liban

M. Ronan CARIOU, Docteur, HDR, Oniris-LABERCA, France

Invités

Mme Gaud DERVILLY-PINEL, Docteur, HDR, Oniris-LABERCA, France

À mes chers parents avec tout mon amour !

REMERCIEMENTS

Aux membres de notre jury de thèse,

Monsieur le **Professeur Raphaël Delépée**, Professeur à l'Université de Caen Normandie, France,

Madame le **Professeur Christine Herrenknecht**, Professeur à l'Université de Nantes, Chef du département de Chimie Analytique, Minérale et Générale et Responsable du parcours Contrôle Qualité des Produits de Santé du Master 2 A3M, Nantes, France,

Monsieur le **Docteur Laurent Debrauwer**, Ingénieur de Recherche à l'Institut National de la Recherche Agronomique de Toulouse, France,

Monsieur le **Docteur Pierre Labadie**, Chargé de Recherche, Unité Mixte de Recherche - Environnements et Paléoenvironnements Océaniques et Continentaux (UMR 5805 EPOC), Laboratoire de Physicochimie et de Toxicologie Chimie de l'environnement (LPTC), Bordeaux, France,

Monsieur le **Professeur Farouk Jaber**, Professeur à l'Université Libanaise et Directeur du Laboratoire d'Analyse des Composés Organiques (LACO), Liban,

Monsieur le **Docteur Ronan Cariou**, Chef Projet au Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA) à l'École nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes, France,

Madame le **Docteur Gaud Dervilly-Pinel**, Responsable scientifique adjointe au Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA) à l'École nationale vétérinaire, agroalimentaire et de l'alimentation de Nantes, France,

qui m'ont fait l'honneur d'accepter mon invitation à juger ce travail de thèse, et que je remercie pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture.

Ce projet de thèse est né d'une collaboration internationale entre le Laboratoire d'Étude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA) à Nantes (France) et le Laboratoire d'Analyse des Contaminants Organiques (LACO) à Beyrouth (Liban). Ces deux laboratoires m'ont permis d'apprendre beaucoup professionnellement et personnellement, et d'acquérir de nombreuses compétences.

Tout d'abord, je tiens à remercier les deux directeurs des laboratoires qui m'ont accueillie :

Je tiens à remercier Professeur Bruno le Bizec, de m'avoir accueillie au sein du LABERCA et de m'avoir fait profiter d'un environnement dynamique accompagné de rencontres enrichissantes.

Je tiens également à remercier très sincèrement Professeur Farouk Jaber de m'avoir accueillie au sein du LACO, pour sa disponibilité, ces encouragements dans les moments de doutes et pour toute l'aide qu'il m'a apportée. La qualité de ses conseils et les discussions très enrichissantes que nous avons eues durant ces années de thèse ont grandement aidé à l'accomplissement de ce travail de recherche. Merci Dr. Farouk pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Je tiens à remercier l'association "Lebanese Association for Scientific Research (LAsER) au Liban pour avoir financé ce travail pour les trois ans et Campus France (SAFAR) pour les derniers trois mois.

Ces trois années de thèse ont été l'occasion de rencontres enrichissantes, tant sur le plan personnel que professionnel. C'est du fond du cœur que je tiens à remercier toutes les personnes qui ont croisé mon chemin, qui ont contribué à l'aboutissement de ce projet et à faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

Je remercie vivement mon directeur et encadreur de thèse Dr. Ronan Cariou. Ces trois années ont été grâce à toi enrichissantes tant au niveau professionnel que personnel. Je te remercie de m'avoir bien accueillie, écoutée, conseillée et encouragée. Merci pour la confiance que tu m'as accordée dans mon travail et pour tout le temps que tu m'as consacré et tes remarques pertinentes. Ton aide m'a permis d'aller au bout de ces travaux de recherche. Un grand merci Ronan !

Je remercie chaleureusement Dr. Gaud Dervilly Pinel pour sa participation tout au long de ces trois années, d'avoir suivi mon travail, pour sa disponibilité, pour sa patience de répondre à mes questions et pour ses nombreux encouragements.

Je tiens également à remercier Dr. Laurence Poirier et Dr. Catherine Munsch pour le temps consacré aux réunions de comité de thèse et pour leurs conseils.

Je tiens à remercier également Dr. Marc Babut de l'institut Irstea, RiverLy Research Unit, Lyon-Villeurbanne Center, en France, pour son aide précieuse, pour les corrections et les calculs statistiques établis dans mon article publié ainsi que pour le partage des échantillons.

Je remercie tous les membres de l'équipe UCO (Philippe, Anaïs (merci pour tout, je t'aime beaucoup Anaïs !), Aline, Danielle, Coralie, Alicia, Sophie (Grâce à toi j'ai pu améliorer mon français), Yoann, Thomas, Fred, Bruno, Vincent, ...), chacun d'entre vous m'a accompagnée et aidée au cours de mes travaux, avec beaucoup de gentillesse, de patience et de dévouement. Je vous remercie très vivement pour votre gentillesse et votre bonne humeur.

Je tiens ensuite à remercier Mademoiselle Karine Pouponneau et Monsieur Fabrice Monteau pour leur disponibilité et pour m'avoir fait profiter de leurs grandes compétences en chromatographie et en spectrométrie de masse. Je les remercie également pour leur soutien et leur aide tout au long de ma période de présence au LABERCA.

Je remercie également Madame Ingrid Guiffard (nous avons passé des moments particuliers à côté de notre chouchou la GPC ☺), Dr. Emmanuelle Bichon, Monsieur Sebastien Hutinet, Madame Marie-Line Morvan, Dr. Jean-Philippe Antignac, Dr. German Cano-Sancho, Dr. Yann Guitton, Mademoiselle Amandine Parmentier, Madame Patricia Sauvaget, Madame Lucie Besecque, Madame Cécile Obeida, Madame Fanny Kieken et Madame Anne Prevosto pour leurs aides précieuses, leur soutien et conseils ainsi que leurs nombreux encouragements tout au long de ces trois années.

Je remercie beaucoup Madame Florence Ramdin pour ses conseils, son aide précieuse concernant la partie administrative et aussi pour son bonne humeur au quotidien.

J'ai une pensée toute particulière pour Dr. Haïfa Abdul Rahim qui m'a encouragée à me lancer dans cette aventure, qui m'a soutenue dès le début de mes études universitaires et qui m'a transmis le goût pour la recherche. Un immense merci pour ton aide, ton soutien, tes encouragements et tes conseils tout au long de mon cursus universitaire, je t'aime beaucoup Dr. Haïfa !

Cette thèse a été une jolie histoire remplie d'amitiés nouvelles. Je remercie chaleureusement tous mes collègues, les doctorants (Marie, Mariane, Alexis, Jeremy, Komodo, ...), les post-doctorants (Maykel, Léa, Luca, Caroline, Mika, ...) et les stagiaires passés et présents (Maxime Lelievre, ...) avec lesquels j'ai pu partager de bons moments entre les apéros labo, les sorties, les soirées, les mots croisés, ... Merci pour tout ça !! Je vous souhaite une bonne continuation dans vos travaux et une belle vie. Vous allez beaucoup me manquer ! N'oubliez pas de prendre les photos !!!

Il est difficile de résumer les remerciements en quelques mots pour la personne qui m'a accompagnée dans tous les moments difficiles en France. Elsa Omer! J'ai le plaisir et la chance de t'avoir rencontrée. Merci pour tout et surtout pour ton amitié. Je te souhaite tout le bonheur du monde. Tu vas rester dans mon cœur et mes pensées ! N'oublie pas que tu as une sœur au Liban.

Un merci tout particulier à mes proches et amis fidèles et soucieux qui m'ont beaucoup encouragée et aidée Soha Al Wazzan (mon adorable belle-mère), Ghina Hajjar (mon support dans le moment de stress, merci pour tout Ghina ! Meilleure amie pour la vie), Julia Hage (merci pour les bons moments passés, les soirées et tout), Baudouin Lesmann, Fatmé Broche, Nahla Hajjawi, Amina Khaled, Nagham Murad, Mohamad Faysal Hajjawi, Ali Koteiche, Anthony Massiadi, Ibrahim El Hajj, Hikmat Daou, Lama Fawaz, et mes oncles de la famille Abdel Malak.

Je remercie également toutes les personnes avec qui j'ai passé des moments inoubliables au cours de ces trois années à Nantes (Zeina El Sayed, Yosra Doghri, Kassem Saad, Mohammad El Kadri, Michelle Moughaizel, Zahraa Jaafar, Hala Ghazi, Zeinab Karaki, ...).

Enfin, mes pensées reviennent tout particulièrement à mes parents, mon père Ahmad, ma mère Diana, ma sœur Hikmat, et mes frères Kassem et Omar que je remercie tous, pour leur soutien et leurs encouragements pendant toutes ces longues années d'étude. Après 26 ans de dévouement et de sacrifices, voilà papa, maman, notre rêve est réalisé ! Vous trouvez le fruit de vos efforts. Je suis sûre qu'aujourd'hui vous êtes très contents et fiers de moi. Je vous ai dédié cette thèse à tous les deux.

Je voudrais remercier du fond du cœur l'homme de ma vie, mon mari Karim, pour son soutien inconditionnel, ses encouragements et sa patience durant ces années d'étude. Ton amour et ton affection remplissent mes jours de bonheur.

Un Grand Merci à vous tous d'avoir grandement participé à la construction de mes compétences de futur jeune chercheur!

Inas

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	21
LISTES DES FIGURES, TABLEAUX ET ÉQUATIONS	27
INTRODUCTION GÉNÉRALE	37

CHAPITRE 1

LES DECHLORANES, DES RETARDATEURS DE FLAMME

1.1. RETARDATEURS DE FLAMME	47
1.1.1. Cycle du feu.....	47
1.1.2. Principaux types de RF.....	50
1.1.2.1. RF minéraux	50
1.1.2.2. Systèmes intumescents	50
1.1.2.3. RF azotés.....	51
1.1.2.4. RF phosphorés	51
1.1.2.5. RF halogénés.....	51
1.1.3. Modes d'action des RF.....	52
1.1.3.1. Action physique	52
1.1.3.2. Action chimique	53
1.1.4. Règlementation des RF.....	54
1.1.5. Marché des RF	55
1.2. DECHLORANES.....	58
1.2.1. Synthèse et propriétés physico-chimiques.....	58
1.2.2. Métabolisme et données toxicologiques	61
1.2.3. Prévalence dans l'environnement et le biote.....	64
1.2.3.1. Matrices environnementales	64
1.2.3.2. Biote.....	66
1.2.3.3. Exposition alimentaire	69
1.2.3.4. Données d'imprégnation	77
1.2.4. Stratégies analytiques dédiées aux Dechloranes.....	80
1.2.4.1. Techniques d'extraction	80
1.2.4.2. Techniques de purification	82
1.2.4.3. Séparation chromatographique.....	84
1.2.4.4. Ionisation et détection.....	85
1.3. POSITIONNEMENT ET OBJECTIFS DU PROJET	86

CHAPITRE 2

SÉPARATION ET DETECTION DES DECHLORANES

2.1. TECHNIQUES D'IONISATION	91
2.1.1. Impact électronique.....	92
2.1.2. Ionisation chimique en mode négatif.....	94
2.1.3. Ionisation chimique à pression atmosphérique.....	96
2.2. MÉTHODE D'ACQUISITION	100
2.2.1. Méthodes MS/MS en basse résolution.....	100
2.2.2. Ecueils à basse résolution	103
2.2.2.1. Impact des composés marqués sur les composés natifs à basse concentration.....	103
2.2.2.2. Impact des composés natifs à forte concentration sur les composés marqués.....	104
2.2.3. Haute résolution	106
2.2.4. Quantification par dilution isotopique.....	107
2.3. SÉPARATION CHROMATOGRAPHIQUE	110
2.4. CONCLUSION ET MÉTHODE INSTRUMENTALE FINALISÉE.....	112

CHAPITRE 3

STRATÉGIE DE PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

3.1. EVALUATION DE MÉTHODES DE PURIFICATION EN VIGUEUR AU LABERCA POUR L'ANALYSE DES PCDD/F ET PCB	117
3.1.1. Méthode manuelle dédiée aux PCDD/F et PCB.....	117
3.1.2. Méthode automatisée dédiée aux PCDD/F et PCB	119
3.1.3. Méthode manuelle dédiée aux PCB-Ndl	121
3.2. DÉVELOPPEMENTS SPÉCIFIQUES DE PURIFICATION	122
3.2.1. Première étape : colonne de silice multicouches.....	123
3.2.1.1. Colonne de silice acide multicouches	123
3.2.1.2. Ajout d'une couche de silice basique.....	125
3.2.2. Seconde étape de purification	127
3.2.2.1. Colonne de Florisil®	127
3.2.2.2. Chromatographie par perméation de gel	129
3.2.2.3. Sélection de la seconde étape de purification.....	130
3.3. TECHNIQUE D'EXTRACTION	133
3.4. SOURCES DE CONTAMINATION PROCÉDURALE.....	134
3.5. CONCLUSION ET MÉTHODE D'ANALYSE FINALISÉE.....	137

CHAPITRE 4

**PERFORMANCES ANALYTIQUES, CONTAMINATION ENVIRONNEMENTALE ET EXPOSITION
ALIMENTAIRE**

4.1. PERFORMANCES DE LA MÉTHODE	143
4.1.1. Courbes d'étalonnage.....	143
4.1.2. Rendements d'extraction.....	144
4.1.3. Seuils de sensibilité	144
4.1.3.1. Limites de quantification	145
4.1.3.2. Blancs de procédure et limites de report	146
4.1.4. Calibration interne.....	147
4.1.4.1. Echantillons de contrôle qualité	148
4.1.4.2. Justesse.....	150
4.1.4.3. Fidélité	150
4.1.5. Calibration externe	152
4.1.6. Incertitude élargie.....	153
4.2. CONTAMINATION ENVIRONNEMENTALE.....	154
4.2.1. Sélection des échantillons.....	155
4.2.2. Aspects analytiques spécifiques.....	157
4.2.2.1. Préparation de l'échantillon	157
4.2.2.2. Seuils de sensibilité	157
4.2.2.3. Scénarios lowerbound et upperbound	158
4.2.3. Résultats et discussion	158
4.2.3.1. Silures de la Dordogne et la Garonne	158
4.2.3.2. Silures couvrant le territoire métropolitain de France	164
4.2.3.3. Profil des isomères du DP	166
4.2.3.4. Corrélations entre Dechloranes et PCB	168
4.2.4. Conclusion.....	170
4.3.1. Habitudes alimentaires et sélection des échantillons.....	171
4.3.1.1. France.....	171
4.3. Exposition alimentaire	172
4.3.1.2. Liban.....	174
4.3.1.3. Afrique subsaharienne.....	177
4.3.2. Niveaux de prévalence dans les aliments	180
4.3.2.1. France	180
4.3.2.2. Liban.....	184

4.3.2.3. Afrique subsaharienne	187
4.3.2.4. Comparaison entre les trois zones géographiques	191
4.3.2.5. Comparaison avec la littérature	193
<i>4.3.3. Estimation de l'exposition alimentaire</i>	<i>195</i>
4.3.3.1. France	195
4.3.3.2. Liban.....	198
4.3.3.3. Comparaison entre la France et le Liban	200
4.3.3.4. Comparaison avec la littérature	202
4.4. CONCLUSION.....	206
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	209
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	217
ANNEXES	235

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Afssa	Agence française de sécurité sanitaire des aliments
Anses	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
APCI	Ionisation chimique à pression atmosphérique
CP	Chlordene Plus
CPG	Chromatographie par perméation de gel
CV	Coefficient de variation
DAOA	Denrée alimentaire d'origine animale
DCM	Dichlorométhane
Dec-601	Dechlorane 601
Dec-602	Dechlorane 602
Dec-603	Dechlorane 603
Dec-604	Dechlorane 604
Dec-604CB	Dechlorane 604 CB
DP	Dechlorane Plus
EI	Impact électronique
EIL	Essai inter-laboratoire
EPA	Agence de protection environnementale
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
GC	Chromatographie en phase gazeuse
HRMS	Spectrométrie de masse haute résolution
INCA 2	Etude individuelle nationale des consommations alimentaires 2
INCA 3	Etude individuelle nationale des consommations alimentaires 3
LABERCA	Laboratoire d'Etude des Residus et Contaminants dans les Aliments
LACO	Laboratoire d'Analyse des Composés Organiques

LB	Lowerbound
LC	Chromatographie liquide
LLE	Partage liquide-liquide
LOD	Limite de détection
LOQ	Limite de quantification
LoR	Limite de report (limit of reporting)
MG	Matière grasse
MS	Matière sèche
MS	Spectrométrie de masse
MS/MS	Spectrométrie de masse en tandem
n.d.	Non détecté
n.q.	Non quantifié
N/A	Non disponible
NCI	Ionisation chimique en mode négatif
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
p.c.	Poids corporel
PBDE	Polybromodiphenyle ether
PCB	Polychlorobiphényle
PCB-DL	Polychlorobiphényle de type dioxin-like
PCB-NDL	Polychlorobiphényle de type non dioxin-like
PCDD	Polychlorodibenzo- <i>p</i> -dioxine
PCDF	Polychlorodibenzofurane
PE	Prise d'essai
PF	Poids frais
PFK	Perfluorokérosène

PLE	Extraction par solvant pressurisé (Pressurised Liquid Extraction)
POP	Polluant organique persistant
QC	Contrôle qualité (échantillon)
QCF	Contrôle qualité fortifiée (échantillon)
RF	Retardateur de flamme
SIM	Selected Ion Monitoring
SRM	Selected Reaction Monitoring
u.a.	Unité arbitraire
u	Incertitude combinée
U	Incertitude élargie
UB	Upperbound
VTR	Valeur Toxicologique de Référence
<i>P</i>	Valeur-p
ρ	Coefficient de corrélation de Spearman
Σ	Somme

LISTES DES FIGURES, TABLEAUX ET ÉQUATIONS

Listes des Figures

Figure 1 : Triangle du feu (modèle d'Emmons) (EFRA, 2014).....	48
Figure 2 : Principales phases du développement d'un feu (Flameretardants-online, 2018).....	48
Figure 3 : Représentation schématique des différentes étapes du cycle du feu (EFRA, 2014).....	49
Figure 4 : Parts du marché mondial des différentes familles de RF en 2016, sur un volume total de 2,25 millions de tonnes (Flameretardants-online, 2018).	56
Figure 5 : Pourcentage de RF consommés dans les différents régions du monde (IHS-market, 2018 ; Flameretardants-online, 2018).	57
Figure 6 : Structures chimiques des Dechloranes.....	58
Figure 7 : Réactions de production du DP et de ses déclinaisons.	59
Figure 8 : Structure chimique du Dec-604CB.....	60
Figure 9 : Structures chimiques des quatre métabolites identifiés du DP.	62
Figure 10 : Voies d'exposition de l'homme aux contaminants chimiques (d'après https://www.bretagne.ars.sante.fr/sites-et-sols-pollues-0).	70
Figure 11 : Principe général de la chromatographie d'exclusion stérique (d'après http://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/5e.html).	83
Figure 12 : Représentation schématique du principe de l'ionisation par impact électronique (d'après https://slideplayer.fr/slide/3278298/).	92
Figure 13 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par EI en mode full scan (Bruker Scion). Température d'injecteur, 250 °C ; Gaz vecteur, hélium ; Température de ligne de transfert, 300 °C ; Température de source, 250 °C.....	93
Figure 14 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par NCI en mode full scan (Bruker Scion). Température d'injecteur, 250 °C ; Gaz vecteur, hélium ; Température de ligne de transfert, 300 °C ; Température de source, 250 °C ; Gaz réactant, méthane.....	95
Figure 15 : Représentation schématique du principe de l'ionisation chimique à pression atmosphérique (d'après Waters), avec les condition utilisées.....	96
Figure 16 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par APCI(+) en mode full scan (Waters Xevo) en conditions protiques. Température de source, 150 °C ; Flux auxiliaire, 200 L.h ⁻¹ en conditions protiques ; Flux du cône, 170 L.h ⁻¹ en conditions protiques ; Tension de cône, 30 V ; Modifiant protique, MeOH/eau 1:1 (v/v).	98

Figure 17 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par APCI(+) en mode full scan (Waters Xevo) en conditions sèches. Température de source, 150 °C ; Flux auxiliaire, 100 L.h⁻¹ en conditions sèches ; Flux du cône, 220 L.h⁻¹ en conditions sèches ; Tension de cône, 30 V. 99

Figure 18 : Massifs isotopiques théoriques de l'ion précurseur [C₅Cl₆]⁺ du DP natif (bleu) et marqué ¹³C₁₀ (orange, échelle inversée). * : isotopologues sélectionnés. 103

Figure 19 : Massif isotopiques théoriques de la transition [¹²C₅³⁵Cl₄³⁷Cl₂]⁺>[¹²C₅Cl₅]⁺ retenue par EI(+) pour les Dechloranes natifs (bleu) et de la transition [¹²C₁¹³C₄³⁵Cl₆]⁺>[¹²C₁¹³C₄³⁵Cl₅]⁺ de l'impureté isotopique des isotopologues marqués (orange, échelle inversée), à nombre d'atomes de départ équivalents. * : isotopologue sélectionné..... 104

Figure 20 : Facteurs de réponse relatifs obtenus pour chaque point de gamme d'étalonnage du Dec-604 par GC-EI-HRMS..... 109

Figure 21 : Chromatogrammes d'ions totaux présentant les séparations des Dechloranes sur 4 colonnes capillaires. Quantités injectées en GC-EI-MS/MS : 4 ng de chaque Dechlorane et 800 pg de ¹³C₁₂-PCB-194. 111

Figure 22 : Gradient de température GC retenu pour l'analyse des Dechloranes sur une colonne HT8-PCB..... 113

Figure 23 : Procédure de purification manuelle de la méthode LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 pour l'analyse des PCDD/F et PCB. 118

Figure 24 : Rendements d'extraction (n=1) obtenus pour les Dechloranes marqués (¹³C-*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP et ¹³C-Dec-602) suivant la méthode de purification manuelle LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04. Analyse par GC-APCI-MS/MS. 119

Figure 25 : Procédure de purification automatisée de la méthode LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 pour l'analyse des PCDD/F et PCB. 120

Figure 26 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes marqués (¹³C-*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP et ¹³C-Dec-602) suivant la méthode de purification automatisée, LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04. Analyse par GC-EI-MS/MS..... 121

Figure 27 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes marqués (¹³C-*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP et ¹³C-Dec-602) suivant la méthode de purification manuelle, LABERCA/DGAI/PCBNDL-tma.2.02. Analyse par GC-EI-MS/MS. 122

Figure 28 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) après purification sur colonne de silice acide, avec élution par du *n*-hexane ou par un mélange *n*-hexane/DCM 1:1 (v/v). Analyse par GC-EI-MS/MS..... 124

- Figure 29** : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) après purification sur colonne de silice acide, suivant 3 fractions d'élution par du *n*-hexane. Analyse par GC-EI-MS/MS. 124
- Figure 30** : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) après partage entre *n*-hexane et NaOH 1 N puis *n*-hexane et HCl (1 N). Analyse par GC-EI-MS/MS. 125
- Figure 31** : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602 et CP), d'une part par purification sur colonne de silice (neutre et acide) suivie d'un partage soude/*n*-hexane (n=3) et d'autre part sur une colonne de silice multicouches (neutre, acide, basique) (n=3) d'un échantillon d'huile de poisson. Analyse par GC-EI-MS/MS. 127
- Figure 32** : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) sur colonne de Florisil[®], par une élution de deux fractions successives de *n*-hexane puis de DCM, pour un extrait d'huile de poisson préalablement purifié sur colonne de silice. Analyse par GC-EI-MS/MS. 128
- Figure 33** : Rendements d'extraction (n=1) obtenus pour les Dechloranes sur colonne de Florisil[®] par une élution en proportions variables d'un mélange *n*-hexane/DCM, pour un extrait d'huile de poisson préalablement purifié sur colonne de silice. 129
- Figure 34** : Profil d'élution obtenu pour une huile de tournesol et les Dechloranes par CPG. Analyse par détecteur UV et GC-EI-MS/MS, respectivement. 130
- Figure 35** : Chromatogrammes d'ions obtenus pour le PFK et les Dechloranes marqués pour un échantillon de farine de poisson purifié sur colonne de silice multicouches, en combinaison avec une colonne de Florisil[®] (haut) ou une étape de CPG (bas) optimisées. Analyse par GC-EI-HRMS. 131
- Figure 36** : Aires des signaux du ¹³C-Dec-602 (n=1) en u.a. (unité arbitraire) obtenus pour les extraits de différents types de matrices alimentaires purifiés sur colonne de silice multicouches optimisée puis sans (bleu) et avec (rouge) CPG. Analyse par GC-EI-HRMS. 132
- Figure 37** : Rendements d'extraction (n=4) obtenus par PLE pour les Dechloranes marqués suivant les conditions appliquées dans les méthodes LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 et LABERCA/DGAI/PCBNL-tma.2.02 pour l'analyse des PCDD/F, PCB, RF bromés et autres polluants environnementaux au LABERCA dans les matrices alimentaires. 134
- Figure 38** : Schéma du protocole analytique optimisé et finalisé pour l'analyse des Dechloranes. 138
- Figure 39** : Cartes de contrôle des Dechloranes quantifiés dans l'échantillon QCF (n=20) au cours des campagnes d'analyse n°2 à n°5. Rouge, moyenne ; bleu, moyenne ± 3 écarts-types. 149

Figure 40 : Représentation d'un silure.	155
Figure 41 : Localisation des sites de prélèvement des silures de la campagne d'analyse n°1 (fond de carte d'après http://cartographie.nature33.fr/visualiseur/?idlyr=11519).	156
Figure 42 : Localisation des sites de prélèvement des silures de la campagne d'analyse n°3 (fond de carte d'après http://cartographie.nature33.fr/visualiseur/?idlyr=11519).	157
Figure 43 : Principes schématiques représentatifs des scénarios lowerbound (LB) et upperbound (UB). (a) Composés à LOQ ; (b) Composés à LoR.	158
Figure 44 : Cumuls de concentrations médianes en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/g PF, scénario LB et UB) pour les échantillons de la Dordogne et la Garonne de la campagne d'analyse n°1.	161
Figure 45 : Concentrations cumulées en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/g PF, scénario LB) pour chaque échantillon (D1 à D20 pour la Dordogne et G1 à G23 pour la Garonne) de la campagne d'analyse n°1.	163
Figure 46 : Valeurs de f_{anti} obtenues pour les échantillons de silure. Rouge, campagne n°1 ; bleu, campagne n°2, pointillés, limites de LoR associées.	168
Figure 47 : Cumuls de concentrations moyennes en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/g PF, scénario LB) par groupe d'aliments, observés pour la France, le Liban et l'Afrique subsaharienne.	192
Figure 48 : Cumuls de concentrations moyennes en Dechloranes (pg/g PF, scénario LB) par groupe d'aliments pour la France, le Liban, l'Afrique subsaharienne (présente thèse), le Japon (Yasutake et al., 2018) et la Corée du Sud (Kim et al., 2014).	194
Figure 49 : Apport journalier cumulé en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé selon le groupe d'aliments et par genre pour la population beyrouthine.	199
Figure 50 : Apport journalier cumulé en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé selon la tranche d'âge et par genre pour la population beyrouthine.	199
Figure 51 : Comparaison des apports journaliers des matrices d'intérêts estimés pour la France et le Liban, et rapportés dans la littérature (Kim et al., 2014; L'Homme et al., 2015; Yasutake et al., 2018).	200
Figure 52 : Apport journalier en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé par groupe d'aliments et selon le scénario pour la France et le Liban.	202
Figure 53 : Apport journalier en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé par matrice et selon le scénario pour la France et le Liban.	202

Listes des tableaux

Tableau 1 : Quantité (en milliers de tonnes) de RF consommés en 2001 (CEFIC-EFRA). n.d. : non déterminé.....	56
Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des Dechloranes (Xian et al., 2011 ; Feo et al., 2012 ; Chen et al., 2014).	61
Tableau 3 : Données toxicologiques disponibles pour le DP.....	63
Tableau 4 : Niveaux de prévalence des Dechloranes rapportés dans la littérature pour les denrées alimentaires. <LOD, non détecté ; n.q., non quantifié.	73
Tableau 5 : Données d'imprégnation des Dechloranes disponibles dans la littérature. LOD : limite de détection.	79
Tableau 6 : Ions majoritaires observés pour les Dechloranes par EI, NCI et APCI(+) en mode full scan.	100
Tableau 7 : Paramètres d'acquisition retenus pour l'identification des Dechloranes par GC-EI(+)-MS/MS. Température d'injecteur, 250 °C ; Température de source, 250 °C ; Température de ligne de transfert, 300 °C ; Énergie d'ionisation, 70 eV ; Gaz vecteur, hélium.	101
Tableau 8 : Paramètres d'acquisition retenus pour l'identification des Dechloranes par GC-APCI(+)-MS/MS en conditions sèches. Température d'injecteur, 280 °C ; Température de source, 150 °C ; Température de ligne de transfert, 350 °C ; Aiguille de corona, 2 µA ; Tension de cône, 30 V ; Gaz vecteur, hélium.	102
Tableau 9 : Rapports des signaux des transitions diagnostiques observées par GC-EI-MS/MS à basse résolution pour l'injection distincte de mélanges de composés natifs et marqués.....	105
Tableau 10 : Pourcentages de contribution des signaux des composés natifs sur ceux des composés marqués et <i>vice versa</i> observés par GC-EI-HRMS (R=10 000).....	106
Tableau 11 : Description des solutions d'étalonnage.....	107
Tableau 12 : Facteurs de réponse relatifs moyens obtenus pour les Dechloranes par GC-EI-HRMS.	109
Tableau 13 : Comparaison entre les 3 modes d'ionisation investigués.....	112
Tableau 14 : Paramètres d'acquisition en mode SIM retenus pour l'analyse des Dechloranes par GC-EI-HRMS.	114
Tableau 15 : Quantités de Dechloranes (pg) détectés dans les blancs de procédure.....	136

Tableau 16 : RRF moyens (\pm CV) obtenus au cours des différentes campagnes d'analyse (n=5). ...	144
Tableau 17 : LOQ consensuelles obtenues pour les Dechloranes (pg) au cours des campagnes n°1 et 3.	145
Tableau 18 : LOQ obtenues pour les Dechloranes (pg) au cours des campagnes n°4 et 5.	146
Tableau 19 : Contamination procédurale moyenne \pm écart-type (pg) observée pour l' <i>anti</i> -DP, le <i>syn</i> -DP et le Dec-602 au cours des cinq campagnes d'analyse.	147
Tableau 20 : Valeurs de justesse estimées pour les 6 Dechloranes à partir des valeurs moyennes de quantification (pg/g MG) des échantillons QC (n=10) et QCF (n=20).	150
Tableau 21 : Valeurs de fidélité intermédiaire estimées pour les 6 Dechloranes à partir des valeurs de quantification des échantillons PS1 (n=3), PS2 (n=4) et QCF (n=20). CV, coefficient de variation.	151
Tableau 22 : Description des échantillons EIL.	152
Tableau 23 : Résultats de l'EIL pour la solution de standards NCP/AMAP-11-BFR/CFR-4. Concentrations en pg/ μ L pour la solution et en pg/g pour le poisson ; CV, coefficient de variation ; n.d., non détecté ; NC, non communiqué.	153
Tableau 24 : Valeurs d'incertitude combinée et d'incertitude élargie estimées pour les 6 Dechloranes.	154
Tableau 25 : Données de contaminations (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les échantillons de silures de la campagne n°1 (n=43).	160
Tableau 26 : Données de prévalence (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les échantillons de silures de la campagne n°3 (n=102).	165
Tableau 27 : Coefficients de corrélation de Spearman (ρ) entre les concentrations en Dechloranes (basées sur PF / MG) de la campagne n°3. ^{ns} : $P > 0,05$; * : $P > 0,01$; † : $P \leq 0,01$; ‡ : $P \leq 0,0001$	166
Tableau 28 : Coefficients de corrélation de Spearman (ρ , $P < 0,0001$) entre les concentrations en Dechloranes et les PCB (basées sur PF) de la campagne n°3.	169
Tableau 29 : Moyennes de consommation (g/jour) des différents groupes de DAOA d'intérêt par la population française adulte, d'après les études INCA 2 et INCA 3. * : types d'aliments non analysés dans le cadre de ce travail mais considérés dans le calcul.	173
Tableau 30 : Description de l'échantillonnage de DAOA pour la France (campagne n°2).	174

Tableau 31 : Moyennes de consommation (g/jour) des différents groupes de DAOA et matières grasses d'intérêt par la population beyrouthine (\pm écart-type, intervalle de confiance à 95%) (Nassreddine et al., 2006).....	176
Tableau 32 : Description de l'échantillonnage de DAOA et de matières grasses pour le Liban (campagne n°4).	177
Tableau 33 : Description de l'échantillonnage de denrées alimentaires d'origine animales et végétales pour l'Afrique subsaharienne (campagne n°5).....	179
Tableau 34 : Données de contamination (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les DAOA collectées en France (campagne n°2, n=117).	182
Tableau 35 : Données de prévalence (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les DAOA et matières grasses collectées au Liban (campagne n°4, n=58).	185
Tableau 36 : Données de prévalence (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les denrées alimentaires d'origine animales et végétales collectées en Afrique subsaharienne (campagne n°5, n=58).....	188
Tableau 37 : Apport journalier en Dechloranes (pg/jour) estimé pour la population française adulte.	196
Tableau 38 : Apport journalier en Dechloranes (pg/jour) estimé pour la population beyrouthine adulte.	198
Tableau 39 : Apports journaliers cumulés en Dechloranes observés pour la France, le Liban et dans la littérature. *converti en considérant un poids moyen d'un japonais adulte égal à 58 kg (d'après www.e-stat.go.jp/stat-search/file-download?statInfId=000031632195&fileKind=0 , le 18 février 2018) ; Souligné : groupe apparaissant comme le plus fort contributeur.	204

Liste des équations

- Équation 1 :** Calcul du facteur de réponse relatif du point d'étalonnage « j » pour le composé « i ». C, concentration ; A, aire du signal..... 108
- Équation 2 :** Calcul du taux de récupération de l'étalon interne « i ». R[EI]_i, taux de récupération de l'étalon interne cible « i » ; Q[EE], quantité massique d'étalon externe introduite ; Q[EI]_i, quantité massique d'étalon interne « i » introduite ; A, aire du signal; RRF [EI]_i, facteur de réponse relatif moyen de l'étalon interne cible « i » calculé par rapport à l'étalon externe..... 108
- Équation 3 :** Calcul de quantification d'un analyte « i » dans la prise d'essai. C[Ana]_i, concentration de l'analyte cible « i » dans la prise d'essai ; Q[EI]_i, quantité massique d'étalon interne « i » introduite ; P.E., masse de prise d'essai ; A, aire du signal; RRF_i, facteur de réponse relatif moyen de l'analyte cible « i ». 108
- Équation 4 :** Calcul de l'incertitude combinée (u)..... 153
- Équation 5 :** Calcul de l'incertitude élargie (U)..... 154
- Équation 6 :** Calcul de la fraction d'*anti*-DP (f_{anti})..... 167

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La lutte contre les dommages causés par les incendies (domestiques ou industriels), en termes économiques ou de santé humaine, est depuis longtemps intégrée au fonctionnement des sociétés industrialisées telles que la nôtre. L'inflammabilité des matériaux cellulosiques et pétrochimiques utilisés dans la production de nombreux biens de consommation courante est souvent très élevée. C'est pourquoi des normes strictes en matière de gestion des risques d'incendies ont été établies dans de nombreux domaines. Pour atteindre le respect de ces normes, les industries ont massivement recours à des substances chimiques dites « retardateurs de flamme » (RF), dans un large panel d'applications. Cependant, le succès de la réduction des risques liés au feu a généré en contrepartie l'émergence d'autres craintes, notamment des points de vue environnemental et de la santé publique.

Il existe aujourd'hui différents types de RF qui agissent par voie chimique ou physique. Parmi ces substances, le Mirex, un RF chloré qui a été utilisé largement comme un insecticide et RF, a été inscrit à l'Annexe A de la Convention de Stockholm en raison de sa toxicité pour l'environnement et la santé humaine, de sa persistance dans l'environnement, de son fort potentiel de bioaccumulation dans la fraction lipidique des tissus biologiques. Depuis les années 1970, les Dechloranes, une autre famille de RF chlorés, sont proposés comme alternatives pour les applications RF du Mirex. Depuis leur découverte dans l'environnement en 2006 puis en la chaîne alimentaire, ces molécules non réglementées soulèvent aujourd'hui des questions concernant leur impact environnemental et leur effet sanitaire.

Dans un contexte global d'analyse de risque, les données concernant les niveaux de prévalence en Dechloranes dans l'environnement et dans les aliments, ainsi que les niveaux d'exposition de la population à ces contaminants émergents, font à présent défaut, notamment en France, au Liban et en Afrique subsaharienne. Afin de dresser un premier état des lieux et contribuer à combler ce manque de données, un projet de doctorat a été conduit en cotutelle internationale entre l'Université Libanaise (UL, Beyrouth, Liban) et l'École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique (Oniris, Nantes, France). Plus précisément, les travaux ont été réalisés entre le Laboratoire d'Analyse des Composés Organiques (LACO-UL) et le Laboratoire d'Études des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA-Oniris). Dans ce cadre, et sur la base des acquis et des compétences des deux laboratoires partenaires, deux grands objectifs de recherche ont été définis comme suit :

- Développer et optimiser la stratégies analytique la plus adaptée pour l'identification et la quantification des Dechloranes à l'état de traces dans des matrices biologiques complexes.
- Évaluer les niveaux de prévalence en Dechloranes (i) dans des poissons d'eau douce collectés en France métropolitaine afin d'évaluer la contamination environnementale et (ii) dans des denrées alimentaires de France, du Liban et d'Afrique subsaharienne afin d'estimer l'exposition alimentaire des populations concernées.

Le Chapitre 1 est dédié à une synthèse bibliographique des études publiées à ce jour sur les RF. Après un certain nombre de considérations générales, il focalise en particulier sur les Dechloranes, décrivant leurs propriétés physico-chimiques ainsi qu'un état des lieux sur les niveaux de prévalence dans les différents compartiments abiotiques, biotiques et humains. Nous présentons également les méthodes d'analyse décrites, sur lesquelles nous nous sommes appuyés pour développer notre propre protocole analytique.

Le Chapitre 2 présente les développements relatifs aux techniques instrumentales investiguées. Compte tenu de la nature des composés d'intérêts, nous nous sommes orientés vers une stratégie basée sur la chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse (MS). Suivant les possibilités identifiées, nous avons en première intention investigué des approches en tandem à basse résolution spectrométrique (GC-MS/MS) suivant trois modes d'ionisation que sont l'impact électronique (EI), l'ionisation chimique négative (NCI) et l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). Après sélection de l'EI, nous avons par la suite jugé utile de recourir un couplage à haute résolution spectrométrique (GC-EI-HRMS). Du point de vue chromatographique, nous avons testé quatre colonnes capillaires, l'une d'entre elles permettant de résoudre une coélution de deux composés d'intérêt.

Le Chapitre 3 décrit les développements relatifs au traitement des échantillons de denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) et huiles végétales. Diverses techniques de purification ont été investiguées, en premier lieu des méthodes appliquées en routine dans le laboratoire d'accueil (LABERCA) pour de nombreux Polluants Organiques Persistants (POP). L'objectif était de vérifier si une méthode existante pouvait s'adapter directement aux Dechloranes, afin d'étendre la portée d'une de ces méthodes multi-résidus, ce qui ne s'est pas révélé concluant. En conséquence, nous nous sommes orientés vers un développement spécifique répondant à toutes nos exigences. L'extraction liquide sous pression (PLE), parmi les techniques d'extraction les plus répandues pour l'extraction de polluants lipophiles tels que les

Dechloranes de matrices biologiques complexes, est la technique d'extraction que nous avons retenu. Pour finir, nous avons évalué la contamination procédurale et proposé des précautions spécifiques supplémentaires aux précautions usuelles utilisées pour les contaminants environnementaux.

Le Chapitre 4 présente l'application de la méthode finalisée au cours de 5 campagnes d'analyse. Les résultats ont d'abord été exploités pour évaluer les performances de la méthode. Ensuite, les résultats de deux campagnes dédiées à des poissons de rivière du genre *Silurus* spp. collectés en France (n=145) permettent de caractériser, pour la première fois, la contamination environnementale en un panel de Dechloranes sur l'ensemble du territoire métropolitain. Enfin, trois campagnes dédiées à des DAOA et huiles végétales collectés en France, au Liban et dans 4 pays d'Afrique de subsaharienne permettent, pour la première fois également, de caractériser les niveaux de prévalence dans les aliments pour ces zones géographiques. Nous avons enfin souhaité, par un exercice d'évaluation de l'exposition, estimer l'exposition alimentaire des populations correspondantes à ces contaminants émergents.

Dans le cadre de cette thèse, plusieurs articles et communications orales et par affiches ont été réalisées et présentées comme suit (*porteur) :

Articles

*Abdel Malak I, Cariou R, Vénisseau A, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Babut M, Le Bizec B (2018). Occurrence of Dechlorane Plus and related compounds in catfish (*Silurus* spp.) from rivers in France. *Chemosphere* 207, 413–420, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.101>.

Abdel Malak I, *Cariou R, Vénisseau A, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Babut M, Le Bizec B (2018). Des Dechloranes dans les rivières métropolitaines. Newsletter Inra en Pays de la Loire n°50, Septembre 2018.

*Abdel Malak I, Cariou R, Guiffard I, Vénisseau A, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Assessment of Dechlorane Plus and related compounds in foodstuffs and estimates of daily intakes from Lebanese population. En préparation pour être soumis à *Chemosphere*.

Acte à congrès international

*Abdel Malak I, *Cariou R, Halloum W, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Identification of dechloranes by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry with Atmospheric

Pressure Chemical Ionisation (GC-APCI-MS/MS). 36th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Florence, Italy, 28th August – 2nd September 2016.

*Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Occurrence of dechloranes in fish from the Garonne and the Dordogne rivers in France. 8th International Symposium on Flame Retardants, York, UK, 7th – 10th May 2017.

*Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Estimation of Dechlorane Related Compounds dietary daily intake for the Lebanese population. 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Kraków, Poland, 26th – 31st August 2018.

Communications orales

*Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Les Dechloranes : contribution à l'évaluation de l'exposition alimentaire à ces contaminants émergents. Forum doctoral, Université Libanaise, Liban, 9 – 10 Mai 2018.

Abdel Malak I, *Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Estimation of Dechlorane Related Compounds dietary daily intake for the Lebanese population. 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Kraków, Poland, 26th – 31st August 2018.

*Cariou R, Bichon E, Vénisseau A, Halloum W, Abdel Malak I, Guiffard I, Marchand P, Dervilly-Pinel P, Le Bizec B. GC-APCI-MS/MS applied to the analysis of environmental contaminants. Waters Users' Meeting, 38th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Kraków, Poland, 26th – 31st August 2018.

Communications par affiche

*Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Identification of Dechloranes by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry with Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (GC-APCI-MS/MS). 26th Annual Meeting of Society of Environmental Toxicology and Chemistry, SETAC Europe 2016, Nantes, France, 22th – 26th May 2016.

Abdel Malak I, *Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Identification of dechloranes by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry with Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (GC-APCI-MS/MS). 21st International Mass Spectrometry Conference, Toronto, Canada, 20th – 26th August 2016.

Abdel Malak I, *Cariou R, Halloum W, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Identification of dechloranes by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry with Atmospheric

Pressure Chemical Ionisation (GC-APCI-MS/MS). 36st International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Florence, Italy, 28th August – 2nd September 2016.

*Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Identification of dechloranes by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry with Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (GC-APCI-MS/MS). Journées scientifiques de l'École Doctorale Biologie Santé, La Chapelle-sur-Erdre, France, 15 – 16 Décembre 2016.

*Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, Jaber F, Le Bizec B. Occurrence of dechloranes in fish from the Garonne and the Dordogne rivers in France. 8th International Symposium on Flame Retardants, York, UK, 7th – 10th May 2017.

Abdel Malak I, Cariou R, Dervilly-Pinel G, *Jaber F, Le Bizec B. Occurrence of dechloranes in fish from the Garonne and the Dordogne rivers in France. Journées scientifiques de l'École doctorale, Université Libanaise, Liban, 20 – 21 Septembre 2017.

CHAPITRE 1

LES DECHLORANES, DES RETARDATEURS DE FLAMME

Ce chapitre introductif vise dans un premier temps à présenter ce que sont les retardateurs de flammes (RF), à présenter les différents types employés, leurs modes d'actions ainsi que le marché de ces composés et les réglementations associées. Dans un second temps, les molécules d'intérêt ainsi que leurs propriétés physico-chimique sont décrites. Les informations disponibles concernant les méthodes d'analyse sur lesquelles nous nous sommes appuyées pour développer la stratégie analytique sont passées en revue au regard de la littérature sur le sujet. Finalement, nous décrivons les objectifs et le positionnement du présent travail au regard de cet état de l'art.

1.1. RETARDATEURS DE FLAMME

Les RF sont des substances chimiques que les manufacturiers ajoutent aux matériaux (meubles rembourrés, matériels électroniques, textiles, mousses synthétiques, moyens de transport, etc.) au cours de leur processus de fabrication, afin de réduire le risque que le produit fini ne prenne feu et/ou de ralentir sa combustion (Iqbal et al., 2017) pour, *in fine*, améliorer la sécurité des habitations et des lieux publics (Stapleton et al., 2014). En soi, le terme RF ne renvoie pas à une catégorie particulière de produits chimiques mais se rapporte plutôt à une fonction, celle de retarder la propagation d'un feu. Le choix du système RF varie selon le type de polymère et conduit à des comportements au feu variables. La quantité de RF ajoutée dépend de l'application du matériau et des spécifications qui lui sont associées. Les RF sont classés comme additifs (sans liaison covalente) ou réactifs (liés au polymère de manière covalente) (Troitzsch, 1998). Dans ce second cas, cela prévient d'un éventuel lessivage et/ou d'une volatilisation du RF. En outre, les RF réactifs n'ont pas d'effet plastifiant et n'affectent pas la stabilité thermique du polymère. Ils sont notamment incorporés dans les polyesters, les résines époxydiques et les polyuréthanes.

Avant d'aborder en détail les modes d'actions des RF, il est utile de rappeler quelques principes sur la propagation d'un feu. Les RF interviennent dans le cycle du feu afin de l'empêcher, de le ralentir ou de l'enrayer. Ils agissent à différents stades, en fonction de leur composition chimique.

1.1.1. CYCLE DU FEU

Le feu s'allume grâce à un activateur (une bougie, par exemple) qui enflamme un combustible (un fauteuil rembourré, par exemple). Il se propage, chauffe les environs et une fois que les matériaux présents dans la pièce dégagent suffisamment de gaz inflammables et sont

suffisamment chauds, l'embrassement se produit : la pièce se retrouve prise dans les flammes. L'association des trois éléments, chaleur, combustible et air, constitue le « triangle du feu » présenté **Figure 1**. Lorsque l'apport d'un des trois éléments du triangle de feu tend à s'amenuiser, le feu décline et finalement s'éteint.

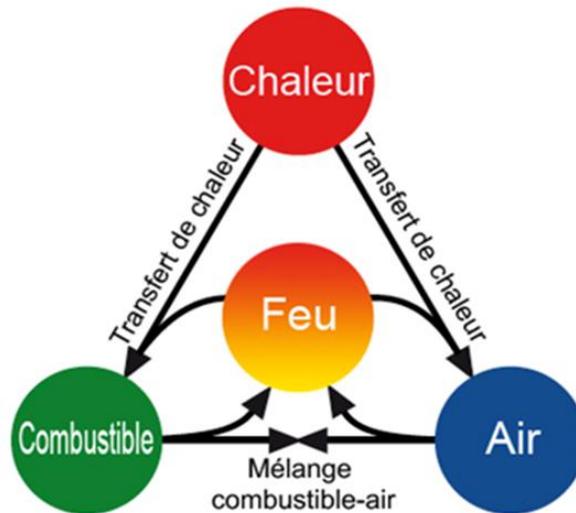


Figure 1 : Triangle du feu (modèle d'Emmons) (EFRA, 2014).

L'évolution du feu peut être divisée en 4 phases principales : l'initiation (I), la propagation (II), le feu complètement développé (III) et le déclin (IV) (**Figure 2**). La température augmente rapidement entre les phases II et III. Cette transition, connue sous le nom de « flash over », correspond à l'embrassement de gaz inflammables qui se sont accumulés et concentrés.

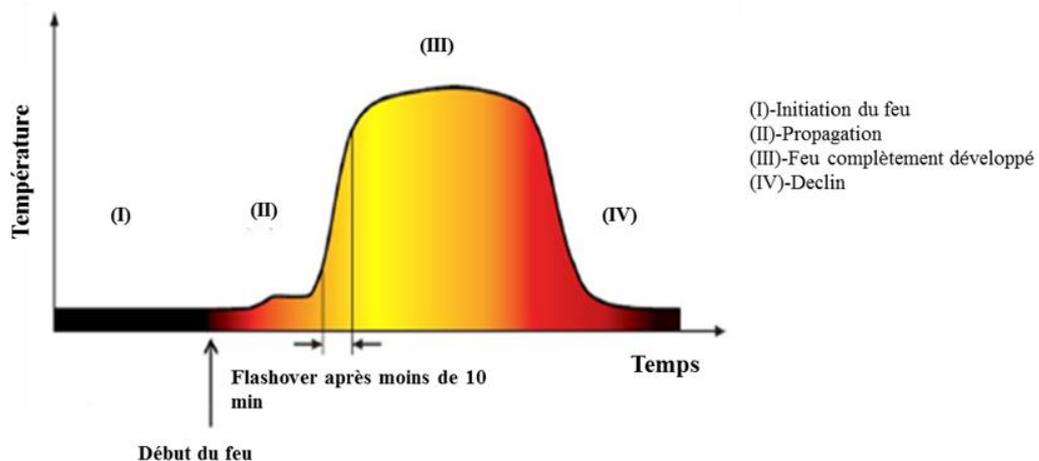


Figure 2 : Principales phases du développement d'un feu (Flameretardants-online, 2018).

Plus en détails (**Figure 3**), toute source d'énergie (chaleur, incandescence, flamme) peut constituer une première source d'inflammation (1). L'énergie transmise au polymère par la source d'inflammation crée une dégradation permettant à la pyrolyse d'avoir lieu (2). La pyrolyse est un processus de dégradation des longues chaînes de polymères en molécules hydrocarbonées plus petites, qui constituent les gaz inflammables (4) émis en phase gazeuse. En phase condensée, le résultat est un matériau carbonisé inerte appelé charbon (3). En phase gazeuse, les gaz inflammables sont mélangés à l'oxygène de l'air. Le mélange oxygène-carburant se fait en proportions adéquates dans la zone de combustion (5) où ont lieu des réactions chimiques exothermiques entre des radicaux libres à forte énergie (H^* et OH^*), le carburant et l'oxygène. En théorie, toute combustion parfaite doit produire de l' H_2O et du CO_2 . Dans la réalité, les feux donnent également lieu à l'émission de produits de combustion incomplète (monoxyde de carbone, cyanure d'hydrogène, etc.) (6). L'énergie dégagée lors d'une réaction exothermique est transmise au polymère et renforce la pyrolyse (7), ce qui permet au phénomène de s'auto-entretenir. Les RF peuvent agir à différents stades de ce cycle du feu, en fonction de leur composition chimique.

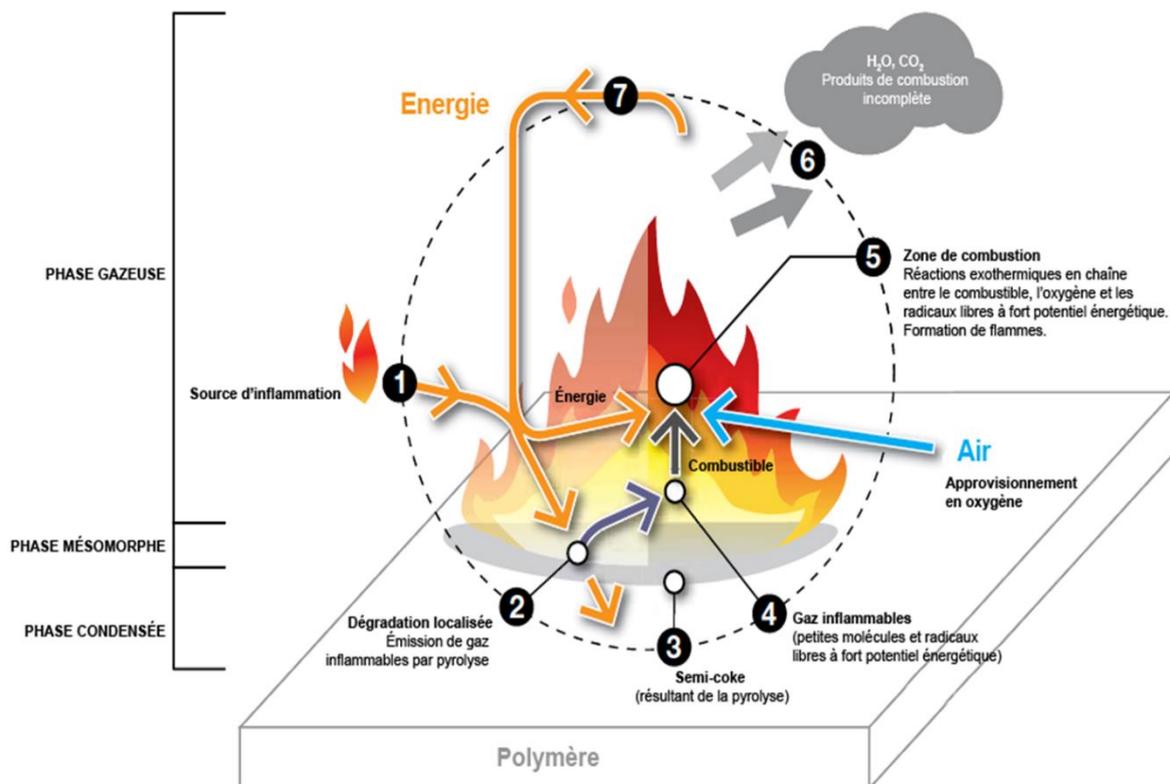


Figure 3 : Représentation schématique des différentes étapes du cycle du feu (EFRA, 2014).

1.1.2. PRINCIPAUX TYPES DE RF

Dans cette partie, nous présentons les différentes familles de RF employés pour améliorer la résistance des polymères au feu. Dans certains cas, il peut être avantageux de combiner deux ou trois d'entre eux pour associer leurs effets et obtenir des synergies. Il est possible de répartir les RF selon cinq familles principales : les minéraux, les intumescents, les azotés, les phosphorés et les halogénés (bromés et chlorés). Chaque famille est associée à des applications privilégiées et spécifiques, principalement en fonction du rapport coût/efficacité. Les critères de sélection des RF (Levchik, 2006 ; Price et al., 2007) sont basés sur :

- L'efficacité d'un type particulier de RF sur un système polymère bien précis ;
- Les conditions de mise en œuvre du polymère (facilité de mise en œuvre et stabilité) ;
- La compatibilité et la capacité à préserver les propriétés physiques du polymère ;
- La production de fumée et de produits de combustion ;
- Le vieillissement ;
- Le compromis entre coût et performance ;
- L'impact environnemental lors de la combustion ou du recyclage du plastique.

1.1.2.1. RF minéraux

Les RF minéraux sont des produits à base d'hydroxydes métalliques (trihydroxyde d'aluminium ($\text{Al}(\text{OH})_3$ ou ATH) et le dihydroxyde de magnésium ($\text{Mg}(\text{OH})_2$ ou MDH)), de polyphosphate d'ammonium, de sels de bore, d'antimoine inorganique ou de phosphore.

1.1.2.2. Systèmes intumescents

Les systèmes intumescents, également utilisés dans les polymères, sont des systèmes qui gonflent sous l'irradiation thermique. Le matériau se trouve alors protégé du flux de chaleur par une couche alvéolaire à faible conductivité thermique. Par ailleurs, cette couche cellulaire protectrice diminue la vitesse de diffusion des gaz issus de la pyrolyse du polymère vers la zone de combustion, ainsi que la vitesse de dégradation du matériau. Elle diminue donc à la fois les transferts de chaleur et de masse. Sur le plan chimique, le polymère, ou ses produits de dégradation, réagissent ensuite avec certains composants du RF. Ce type de protection comprend dans sa formulation une source d'acide inorganique (le polyphosphate d'ammonium), un composé polyhydrique qui peut être le polymère lui-même ou un autre polymère, et des agents gonflants.

1.1.2.3. RF azotés

Les RF azotés (à base ou dérivés de la mélamine, $C_3H_6N_6$) sont des substances organiques principalement employées dans les polycondensats, et moins dans les polymères vinyliques. Il est connu que la mélamine et ses sels agissent comme constituants de systèmes RF intumescents avec formation de produits de dégradation macromoléculaire qui ont pour rôle de protéger le polymère contre l'action des flammes. Les RF azotés sont répartis en trois groupes : les triasines, l'urée et des complexes métal/amine.

1.1.2.4. RF phosphorés

Les RF phosphorés se répartissent notamment en phosphates organiques, phosphonates, phosphinates, phosphore rouge et polyphosphates d'ammonium. Les RF phosphorés sont très efficaces dans les polymères contenant beaucoup d'oxygène. Ils sont ainsi largement utilisés dans les mousses polyuréthane, les peintures, les textiles et les résines thermoplastiques (malléables à haute température) (Scharte, 2010).

1.1.2.5. RF halogénés

Les additifs halogénés représentent une large part du marché en Europe. Les RF halogénés (iode, brome, fluor, chlore) sont, dans les faits, exclusivement bromés ou chlorés. Les produits bromés sont les plus demandés. Très souvent, les additifs halogénés sont associés à des oxydes d'antimoine pour constituer, ensemble, un mélange synergique très efficace et peu coûteux (You et al., 2005).

Suivant l'énergie de liaison covalente, l'efficacité des RF halogénés augmente dans l'ordre suivant : Iode (I) > Brome (Br) > Chlore (Cl) > Fluor (F). Le fluor n'est pas utilisé comme RF, car sa liaison avec le carbone s'avère trop énergétique (l'énergie de la liaison carbone-fluor est égale à 485 kJ/mol). En ce qui concerne l'iode (C-I, 213 kJ/mol), celui-ci peut être libéré partiellement de certaines structures sous forme de radicaux I^{\bullet} , soit lors de la mise en œuvre, soit lors du vieillissement photochimique naturel. Cette libération prématurée de radicaux est donc à l'origine d'une perte de l'effet RF quand survient la combustion. Le brome et le chlore sont les plus efficaces (C-Br, 284 kJ/mol ; C-Cl, 338 kJ/mol). Les RF chlorés sont plus avantageux que les RF bromés des points de vue du coût, de la stabilité thermique et photochimique, et de la densité (plus faible que celle des RF bromés) (Feo et al., 2012 ; Kakimoto et al., 2012).

Les industries plastique et électrique/électronique sont les premières consommatrices de RF. Les RF halogénés, surtout les bromés, sont les plus utilisées dans la manufacture des produits synthétiques devant répondre à des normes de sécurité incendie relativement exigeantes. Le tetrabromobisphenol A, le decabromodiphenyle ether et l'hexabromocyclododecane sont des exemples des RF bromés, tandis que les chloroparaffines et le Dechlorane Plus sont des exemples de RF chlorés. Le présent sujet de thèse focalise sur une famille particulière de RF chlorés : les Dechloranes.

1.1.3. MODES D'ACTION DES RF

Selon leur natures, les RF interviennent par voie physique et/ou par voie chimique, dans au moins une des phases où se déroule la combustion (Troitzsch, 1998 ; Levchik, 2006 ; EFRA, 2014 ; Flameretardants-online, 2018). Certains RF agissent exclusivement par un mode d'action physique (tels que l'hydroxyde d'aluminium ou de magnésium), mais les modes d'action chimiques sont toujours accompagnés par un ou plusieurs mécanismes physiques. La combinaison de plusieurs mécanismes entraîne souvent un effet de synergie.

1.1.3.1. Action physique

L'action physique d'un RF peut survenir par refroidissement, dilution ou formation d'une couche protectrice :

- Refroidissement : l'incorporation, dans le polymère, d'additifs qui se décomposent de manière endothermique, permet de refroidir l'objet en feu à une température inférieure à celle entretenant le processus de combustion. Par exemple, le trihydroxyde d'aluminium fonctionne suivant ce principe et son efficacité est directement proportionnelle à la quantité d'additif introduite dans le matériau.
- Dilution : certains RF libèrent des gaz inertes issus de leur décomposition thermique, qui diminuent la concentration en combustible dans la zone de la flamme. La température de la flamme est diminuée plus rapidement que la chaleur n'est engendrée, ce qui provoque un refroidissement puis une extinction de la flamme. Les RF de ce type, par exemple le trihydroxyde d'aluminium, n'ont trouvé que des applications limitées dans les polymères.
- Formation d'une couche protectrice : le matériau est protégé de la chaleur et des flammes par une couche solide et isolante limitant le transfert de chaleur, réduisant l'échauffement du polymère et empêchant l'accès de l'oxygène nécessaire au processus de combustion (effet barrière). Par exemple les composés phosphorés agissent selon ce mode d'action.

1.1.3.2. Action chimique

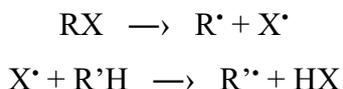
L'action chimique peut avoir lieu en phase gazeuse ou condensée :

- En phase gazeuse, les RF inhibent les réactions radicalaires de propagation de la flamme. Ils sont ainsi à l'origine du ralentissement de la réaction de combustion (cas des RF halogénés).

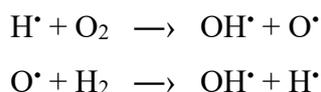
Lors de la combustion il y a libération d'halogénure d'hydrogène (HX), ce qui donne une grande quantité de gaz utile dans la zone de flamme au moment opportun. Dans le cas du chlore, il y a dégagement d'HCl sur une gamme de température beaucoup plus large et élevée qu'un dégagement d'HBr. Ceci rend les RF chlorés un peu moins efficaces que les RF bromés mais néanmoins utilisables car ils sont chimiquement plus stables, surtout pour les RF aliphatiques.

Les RF halogénés présentent un mode d'action principalement en phase gazeuse, qui consiste à inhiber les réactions radicalaires, soit par des réactions de transfert, soit par des réactions de recombinaison. En effet, les RF halogénés agissent en captant les radicaux de la flamme. Leur efficacité se révèle par une diminution de la vitesse de combustion, qui dépend elle-même de facteurs extérieurs comme la vitesse de diffusion de l'oxygène dans la zone de combustion, la vitesse de transfert de chaleur de la flamme vers la surface du polymère.

Réaction entre l'additif retardateur de flamme RX (X=Cl ou Br) et le polymère R'H, qui conduit à la libération d'halogénure d'hydrogène HX :

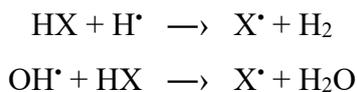


Réaction de propagation de la combustion et de transfert sur le polymère ou sur l'hydrocarbure en phase gazeuse, avec formation de radicaux de haute énergie :



Les radicaux OH[•] et H[•] sont formés à partir des réactions de thermo-oxydation des polyoléfines.

Réaction d'inhibition des radicaux chauds par les hydracides notés HX, donnant les radicaux X^{*} moins réactifs :



L'hydracide (HX) agit comme un catalyseur car il est régénéré au cours de la réaction. Les RF halogénés aliphatiques libèrent l'halogène à des températures plus basses que les RF halogénés aromatiques, d'où l'intérêt de connaître les températures de dégradation thermique du matériau pour choisir le RF halogéné le plus adapté.

- En phase condensée, les RF peuvent également favoriser la formation d'une couche carbonisée (exemple des composés phosphorés), éventuellement expansée, qui isole le matériau des flammes et de l'oxygène, et freine également l'émission des gaz de dégradation du polymère vers l'extérieur.

1.1.4. RÉGLEMENTATION DES RF

Les RF étant faciles d'emploi et massivement utilisés dans l'industrie, ils sont par conséquent très couramment présents dans les objets du quotidien, notamment plastiques. Leur utilisation au cours des dernières décennies s'est accompagnée d'une diminution des incendies et des dommages corporels et psychologiques mais, en contrepartie, certaines familles de ces substances se sont accumulées dans l'environnement (sol, air, eau) et dans les organismes vivants, notamment dans les fractions lipidiques de leurs tissus (Shen et al., 2010 ; Wang et al., 2012). Les éventuels risques associés pour l'homme et son environnement sont le sujet de discussions depuis les années 1970. Les principaux reproches faits à ces composés sont d'être toxiques, très rémanents et de bioaccumulables dans le réseau trophique, et par suite tout au long de la chaîne alimentaire. La question est d'autant plus complexe du fait de la diversité des produits utilisés.

Parmi les RF les plus décriés, les polybromodiphenyl ethers (PBDE) et le Mirex (Dechlorane) ont été utilisés largement dans différents secteurs. Les PBDE sont des RF bromés commercialisés sous forme de trois types de mélanges d'isomères : pentaBDE, octaBDE et decaBDE, tandis que le Mirex est un RF chloré. Ils présentent toutes les propriétés de Polluants Organiques Persistants (POPs), telles définies par la Convention de Stockholm, un traité international visant à restreindre ou interdire la production et l'utilisation de certains contaminants organiques environnementaux remplissant des critères de toxicité, persistance, fort potentiel de

bioaccumulation et transport sur des longues distances (UNEP, 2001). Progressivement, les gouvernements ont adopté des lois contre la commercialisation et la mise sur le marché des PBDE et du Mirex (Shen et al., 2011a ; Brasseur et al., 2014 ; Sun et al., 2015 ; Aznar-Aleman et al., 2016 ; Kim et al., 2016 ; Giulivo et al., 2017), jusqu'à leur inscription à l'Annexe A de la Convention de Stockholm.

Le pentaBDE et l'octaBDE ont été interdits en Europe en 2004, tandis que le decaBDE en 2008 (Möller et al., 2010). Pour le deca-BDE, l'Agence de Protection Environnementale (EPA) aux États-Unis a annoncé un délai jusqu'à fin 2013 pour arrêter son utilisation (Stapleton et al., 2014). Le pentaBDE et l'octaBDE ont été inscrits à la Convention en 2009 (Décisions SC-4/18 et SC-4/14, respectivement), et le decaBDE en 2018 (Décision SC-8/10).

Le Mirex a été premièrement interdit aux États-Unis entre 1977 et 1978 (Feo et al., 2012), et fait partie des substances initialement inscrites à la Convention de Stockholm (Annexe A) en 2001, avec prise d'effet en 2004. Cette interdiction a été transposée immédiatement dans le droit de l'Union Européenne (Règlement 850/2004).

Ainsi, de nombreux de RF non réglementés ont remplacé ceux sujets à restrictions, parmi lesquels le Dechlorane Plus, produit par OxyChem depuis plus de 40 ans (Wang et al., 2010), induisant une évolution profonde du marché des RF.

1.1.5. MARCHÉ DES RF

Les RF représentent un marché important dans le domaine de la chimie, puisqu'il s'agit du plus important groupe d'additifs pour les plastiques (EFRA, 2010). Ils sont en effet utilisés dans la plupart des industries plastiques et électriques ainsi que dans les industries du textile, des adhésifs, des élastomères et du papier. Durant les dernières décennies, les utilisateurs de RF ont remplacé les ignifugeants halogénés traditionnels par d'autres produits halogénés, voire non halogénés et plus durables.

En 2001, le volume du marché des RF aux États-Unis, en Europe de l'Ouest et en Asie a dépassé 1,19 million de tonnes (**Tableau 1**, CEFIC EFRA). Il a augmenté à 1,5 millions de tonnes en 2005 (EFRA, SRI consulting) et a atteint 2,25 millions de tonnes en 2016 (Flameretardants-online, 2018) (**Figure 4**). Selon une étude de marché de 2017 (IHS consulting), une croissance annuelle de 3,1% est attendue entre 2016 et 2021 (IHS-market, 2018 ; Flameretardants-online, 2018). Le **Tableau 1** reprend les volumes de RF consommés par région et par type en 2001 et

la **Figure 4** les données des différentes familles de RF pour 2016. Selon ces deux sources, le trihydroxyde d'aluminium reste le composé le plus utilisé.

Tableau 1 : Quantité (en milliers de tonnes) de RF consommés en 2001 (CEFIC-EFRA). n.d. : non déterminé.

Type de RF	États-Unis	Europe de l'ouest	Japon	Asie autre	Total
Bromés	60	42	47	90	239 (20%)
Chlorés	58	83	26	>19	186 (14%)
Organophosphorés	17	51	5	25	98 (8%)
Trihydroxyde d'aluminium	285	168	40	>9	502 (41%)
Oxydes d'antimoine	30	25	14	30	99 (8%)
Autres	43	39	11	n.d.	>93 (8%)
Total	493 (41%)	408 (34%)	143 (12%)	145 (12%)	1189 (100%)

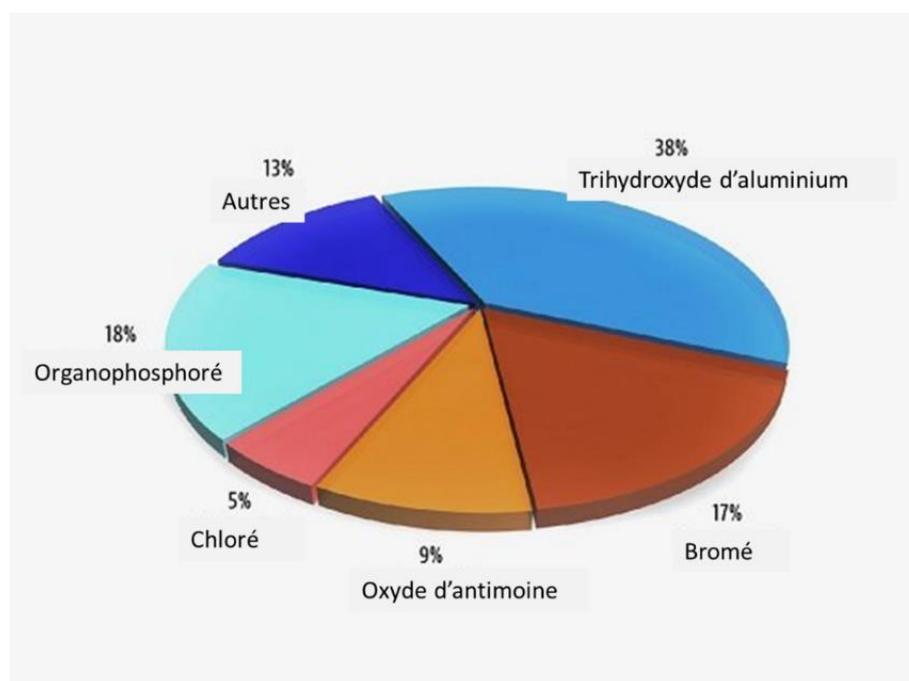


Figure 4 : Parts du marché mondial des différentes familles de RF en 2016, sur un volume total de 2,25 millions de tonnes (Flameretardants-online, 2018).

En 2001, La consommation la plus importante de RF a été rapportée pour les États-Unis et l'Europe de l'Ouest (**Tableau 1**). Cependant, en 2016, les pays asiatiques consommaient la plus grande proportion de RF (50%), et ce, majoritairement en Chine (26%) (**Figure 5**).

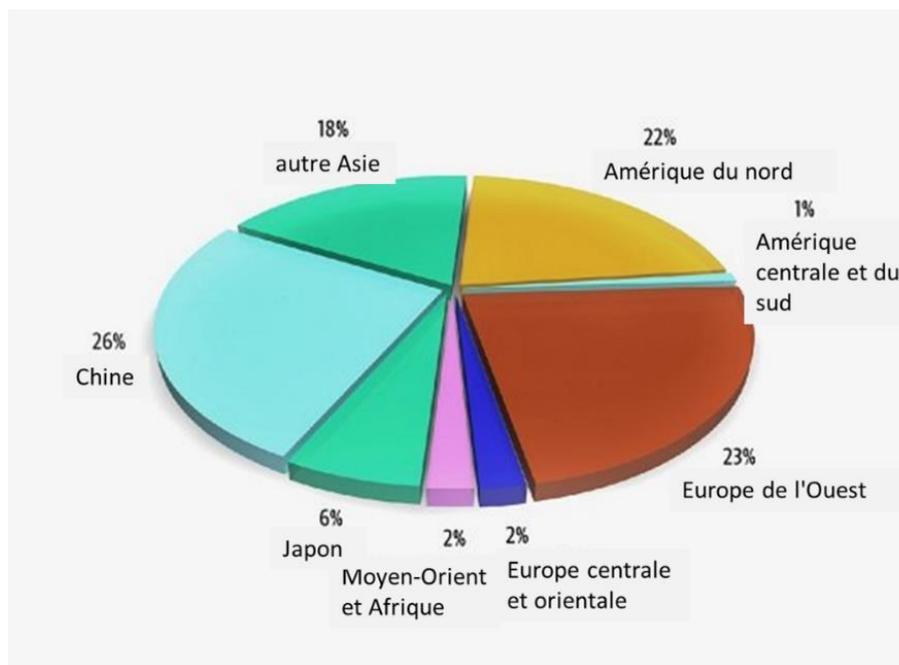


Figure 5 : Pourcentage de RF consommés dans les différents régions du monde (IHS-market, 2018 ; Flameretardants-online, 2018).

Aujourd'hui les RF halogénés représentent encore une large part du marché en Europe. Les RF halogénés interdits ont été remplacés par d'autres composés non réglementés tels que les « nouveaux RF bromés » ou encore le Dechlorane Plus (Yadav et al., 2017). Plus largement, la famille des Dechloranes apparaît comme une alternative sérieuse au Mirex et au decaBDE (He et al., 2013). Les études s'intéressant à la prévalence de cette famille de composés vont croissante depuis 2006, date de leur première observation dans l'environnement. Face à l'émergence des Dechloranes, il s'avère nécessaire de vérifier qu'elle ne présente pas également un risque trop élevé pour l'environnement et pour l'homme. Le présent projet a pour objet d'enrichir le corpus de connaissances relatif à la prévalence des Dechloranes dans l'environnement et à l'exposition alimentaire humaine, en vue de contribuer à une analyse de risque exhaustive.

1.2. DECHLORANES

Le Mirex (C₁₀Cl₁₂), également connu sous l'appellation Dechlorane, est un composé organochloré cristallin, blanc et sans odeur, qui a été utilisé largement comme un insecticide (Brasseur et al., 2014), mais également pour ses propriétés de RF pendant les années 1960–70 (Barón et al. 2012). Après l'interdiction du Mirex, une famille de RF chlorés alternatifs a été mise sur le marché : le Dechlorane Plus (DP ou Dec-605) et ses déclinaisons que sont les Dechloranes 601 à 604 (Dec-601 à Dec-604) et le Chlordene Plus (CP) (Li et al., 2015 ; Wang et al., 2015) (**Figure 6**). La présente section s'intéresse plus particulièrement aux Dechloranes émergents, de leurs propriétés physico-chimiques aux stratégies analytiques dédiées à leur analyse à l'état de traces dans des matrices complexe, en passant par des données de toxicologie et de prévalence.

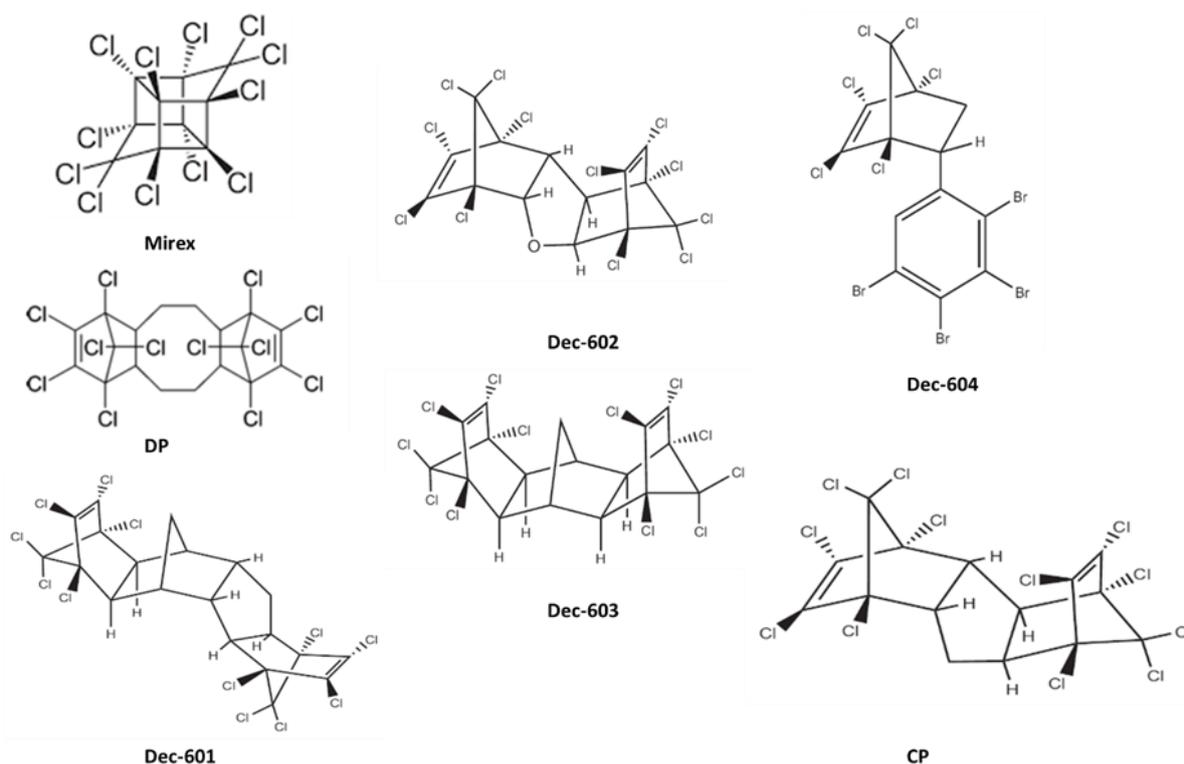


Figure 6 : Structures chimiques des Dechloranes.

1.2.1. SYNTHÈSE ET PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

Le Dechlorane Plus (DP), connu encore sous le nom de Dechlorane 605 (Jia et al., 2011), est le représentant principal de la famille des Dechloranes actuellement produits. A notre

connaissance, il est produit par deux sociétés dans le monde, OxyChem à Buffalo, NY, Etats-Unis (Hooker Chemical Corporation) et Anpon Electrochemical Co., Ltd en Chine (Hoh et al., 2006 ; Feo et al., 2012 ; Yang et al., 2016a).

Le DP est synthétisé selon une réaction Diels-Alder entre 2 moles d'hexachlorocyclopentadiène et 1 mole de 1,5-cyclooctadiène (Wang et al., 2016). La **Figure 7** schématise les réactions de productions du DP et ses déclinaisons en utilisant comme réactif commun l'hexachlorocyclopentadiène. Le DP existe sous forme de trois produits commerciaux (DP-25, DP-35 et DP-515). Il est composé de deux stéréoisomères (*anti*-DP et *syn*-DP) avec un ratio consensus considéré par la communauté scientifique de 3:1, respectivement (Zhu et al., 2007 ; Jia et al., 2011).

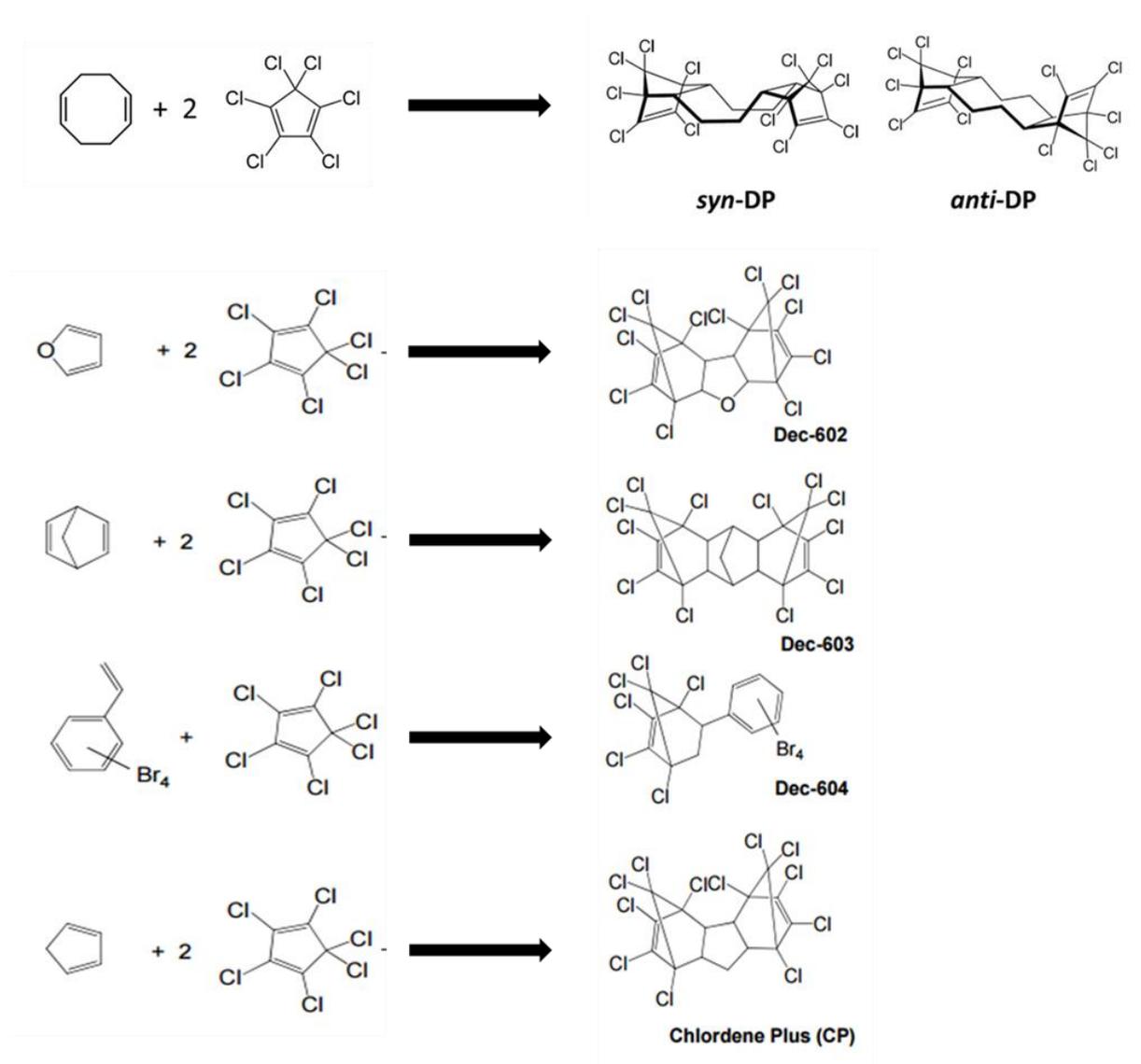


Figure 7 : Réactions de production du DP et de ses déclinaisons.

En termes de production, le DP est classé comme produit chimique à haut volume de production aux États-Unis mais de faible volume de production en Union Européenne (Barón et al., 2012). La production annuelle de Dechlorane Plus a été estimée entre 450 à 4500 tonnes aux États-Unis entre 1986 et 2006 et de 300 à 1000 tonnes en Chine entre 2003 et 2005 (Wang et al., 2016). Les informations existantes dans la littérature concernant la production des déclinaisons du DP sont rares et insuffisantes (Shen et al., 2011b ; Houde et al., 2014).

En termes d'utilisation, Feo *et al.* (2012) ont rapporté que le DP est avantageux par rapport aux RF bromés en raison de ses stabilités thermique et photochimique, de sa densité (plus faible que les RF bromés) et de son coût (moins élevé que celui des RF bromés). Le Dec-602 est notamment utilisé dans des fibres de verre renforcées par du nylon (6 à 18%) (Shen et al., 2011a). Le Dec-603 est considéré comme une impureté dans certains pesticides organochlorés (Aldrine et Dieldrine) (Shen et al., 2011b). Le Dec-604 a été utilisé dans une graisse de silicone (10-30%, Molycote AS 810) produite par la société Dow Corning (Shen et al., 2010) et a été identifié comme impureté (2%) du Mirex (Na et al., 2015). Le CP a été identifié comme impureté du chlordène et du chlordane (Shen et al., 2011b). Enfin, le Dechlorane 604 CB (Dec-604CB) (**Figure 8**) est une impureté (substitution d'un brome par un hydrogène) identifiée dans le Dec-604. Les données disponible sur ce composés sont rares (Houde et al., 2014 ; Shen et al., 2014 ; Wang et al., 2016). Shen et al. (2014) et Wang et al. (2016) l'ont considéré comme un analogue du Dec-604.

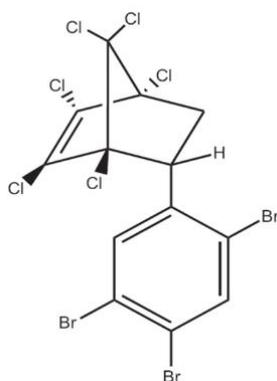


Figure 8 : Structure chimique du Dec-604CB.

La connaissance des propriétés physico-chimiques du DP et de ses déclinaisons (**Tableau 2**) est essentielle pour expliquer ou prévoir leur devenir dans l'environnement, leur tendance à la bioaccumulation et les conditions de leur dégradation, ainsi que pour le développement des stratégies analytiques les plus adaptées à leur mesure.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques des Dechloranes (Xian et al., 2011 ; Feo et al., 2012 ; Chen et al., 2014).

	DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	Dec-604	CP
Formule brute	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₁₂	C ₂₀ H ₁₂ Cl ₁₂	C ₁₄ H ₄ Cl ₁₂ O	C ₁₇ H ₈ Cl ₁₂	C ₁₃ H ₄ Br ₄ Cl ₆	C ₁₅ H ₆ Cl ₁₂
Masse molaire (g/mol)	653,7	677,7	613,6	637,7	692,5	611,6
Masse monoisotopique	647,72013	671,72013	607,65245	631,68883	685,51777	605,67318
Point de fusion (°C)	206	–	190	198	203	–
Log(K _{ow})	9,3	–	7,1	8,5	8,5	7,99
Pression de vapeur (Pa)	4,71 x 10 ⁻⁸	–	5,53 x 10 ⁻⁷	1,59 x 10 ⁻⁷	8,47 x 10 ⁻⁸	–
Densité (g/cm ³)	~1,8	–	~2,0	–	–	–
Solubilité dans l'eau (ng/L)	0,04	–	8,49	0,3	2,21	–

Au regard de leurs propriétés physico-chimiques, de leur production et de leur utilisation, le DP et ses déclinaisons ont tendance à s'accumuler dans divers compartiments. Mais, avant de passer à la partie traitant de la prévalence des Dechloranes dans l'environnement, voici un bref aperçu des connaissances relatives au métabolisme et à la toxicité des Dechloranes pour la santé humaine et animale.

1.2.2. MÉTABOLISME ET DONNÉES TOXICOLOGIQUES

Chez les organismes exposés aux contaminants chimiques, l'identification de métabolites est l'un des aspects étudiés pour déterminer la bioaccumulation, le devenir, la toxicocinétique et la toxicité de ces contaminants. Pour les Dechloranes, quatre produits de dégradation du DP (métabolites de DP) ont été identifiés (**Figure 9**), le décachloropentacyclo-octadécadiène (*anti*-Cl₁₀-DP), l'undécachloropentacyclo-octadécadiène (*anti*-Cl₁₁-DP), obtenus par une réaction de déshalogénéation, et les monoadduits de DP (1,5-DPMA et 1,3-DPMA) obtenus grâce à un procédé de rétro-Diels-Alder (Guerra et al., 2011 ; Muñoz-Arnanz et al., 2011 ; Xian et al., 2011 ; Sühring et al., 2015). Ces produits de dégradations sont possiblement des produits de dégradation environnementale (UV) ou des impuretés du produit technique (Muñoz-Arnanz et al., 2012 ; Li et al., 2013).

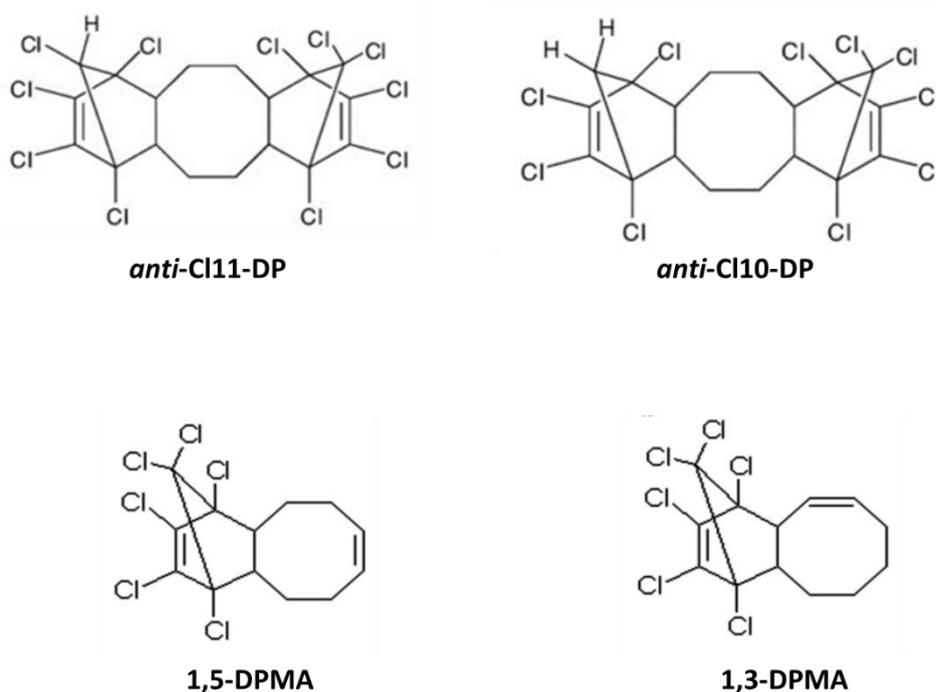


Figure 9 : Structures chimiques des quatre métabolites identifiés du DP.

Diverses études ont fait état de la présence de ces métabolites dans des échantillons d'œufs d'oiseaux (Guerra et al., 2011 ; Muñoz-Arnanz et al., 2011, 2012 ; Chabot-Giguère et al., 2013 ; Zheng et al., 2014), du biote aquatique (Tomy et al., 2013 ; Rjabova et al., 2016) et de sédiment (Sverko et al., 2008 ; Zhou et al., 2017). La détection de ces métabolites dans des échantillons d'œuf d'oiseau peut être due à une bioaccumulation et un transfert maternel alors que chez le reste du biote, l'hypothèse d'une bioaccumulation de ces métabolites dans l'environnement et/ou d'une biotransformation *in vivo* après un transfert du DP *via* la chaîne alimentaire alors été envisagée (Chabot-Giguère et al., 2013 ; Wang et al., 2015).

Toutefois, les données existantes à propos de ces métabolites sont encore très incomplètes et des études complémentaires sont souhaitables. La question du métabolisme des autres Dechloranes reste également inabordée.

Quelques données toxicologiques sont disponibles pour les Dechloranes (Brock et al., 2010 ; Crump et al., 2011 ; Wu et al., 2012 ; Liang et al., 2014 ; Dou et al., 2015 ; Kang et al., 2016 ; Yang et al., 2016b ; Chen et al., 2017 ; Gagné et al., 2017 ; Gong et al., 2018) mais sont encore insuffisantes. Ces études se sont exclusivement intéressées au DP. A notre connaissance, aucune donnée n'est disponible pour les autres composés d'intérêts (i.e. Dec-601 à -604 et CP). Le **Tableau 3** reprend les résultats principaux.

Tableau 3 : Données toxicologiques disponibles pour le DP.

Espèce	Effets observés	Référence
Bactéries lumineuses (<i>Tetrahymena thermophila</i>)	Effet génotoxique	Dou et al., 2015
Macro algues marines juvéniles (<i>Ulva pertus</i>)	Stress oxydatif	Gong et al., 2018
Vers de fumier (<i>Eisenia fetida</i>)	Effet génotoxique	Yang et al., 2016b
Moule bleue (<i>Mytilus eduli</i>)	Aucune lésion histopathologie dans les gonades et aucun changement observés sur les brins d'ADN, le taux de phagocytose et la viabilité	Gagné et al., 2017
Esturgeon (<i>Acipenser sinensis</i>)	Stress oxydatif, effets sur la prolifération cellulaire et l'apoptose	Liang et al., 2014
Poulet (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	Aucun effet significatif sur la cytotoxicité ou la viabilité embryonnaire	Crump et al., 2011
Rat (<i>Rattus norvegicus</i>)	Aucun effet observé même après une dose de 5000 mg/kg de DP	Brock et al., 2010
Souris (<i>Mus musculus</i>)	Stress oxydatif, dommages au foie, Effet sur la réponse toxicologique générale comme la perturbation du métabolisme, l'hépatotoxicité	Wu et al., 2012

D'après ces études, la toxicité directe du DP est très faible. Aucune toxicité aiguë n'a été observée. Elles ont rapporté que l'exposition au DP peut provoquer des dommages oxydatifs (stress oxydatif) suite à des modifications de différents paramètres (enzyme antioxydant, ...). Avec l'augmentation de la production et de détection du DP dans les différents compartiments environnementaux, des études complémentaires sont souhaitables pour étudier la toxicité de DP à long terme afin d'explorer en profondeur les mécanismes d'action et les effets toxicologiques sur les différentes espèces.

En raison du manque de données, aucune agence sanitaire n'a, à ce jour, déterminé de Valeur Toxicologique de Référence (VTR) pour les Dechloranes émergents. Il sera donc délicat de mettre en perspective tout niveau de prévalence environnementale ou biotique avec un seuil d'alerte toxicologique. Dans la partie suivante, nous allons présenter les données disponibles dans la littérature concernant la prévalence des Dechloranes dans les matrices environnementales et biologiques complexes.

1.2.3. PRÉVALENCE DANS L'ENVIRONNEMENT ET LE BIOTE

Nota Bene : par « prévalence », nous entendons « niveaux de contamination » tout au long du manuscrit.

Les RF sont émis dans l'environnement à partir de leurs sites de production, d'utilisation, de recyclage et d'enfouissement. Une fois libérés, leur dissémination dans l'environnement est conditionnée par leurs caractéristiques physico-chimiques.

Le DP est considérée comme une substance émergente. Il a été rapporté pour la première fois dans l'environnement en 2006 (Hoh et al., 2006), dans des échantillons archivés d'air, de sédiments et de poissons collectés entre 1980 et 2004 dans la région des Grands Lacs en Amérique du Nord. Depuis, d'autres données de prévalence relatives à divers compartiments environnementaux tels que le sédiment (Xian et al., 2011 ; Barón et al., 2012 ; Yu et al., 2015), l'air (Hoh et al., 2006 ; Kakimoto et al., 2015), l'eau (Sverko et al., 2011), le biote aquatique (Shen et al., 2011a ; Santín et al., 2013), les aliments (Zhang et al., 2011 ; Kakimoto et al., 2012 ; Kim et al., 2014 ; L'Homme et al., 2015 ; Wang et al., 2015) et l'homme (Brasseur et al., 2014 ; Fromme et al., 2015) ont été recensées.

Les concentrations en Dechloranes disponibles dans la littérature sont exprimées en pg/m^3 pour l'air. Pour les autres matrices, elles sont exprimées en pg/g ou ng/g de matière sèche (MS), de poids frais (PF) ou de matière grasse (MG) selon le type de matrice et la question abordée (adsorption aux particules, exposition, bioaccumulation dans la fraction lipidique).

1.2.3.1. Matrices environnementales

Les études portant sur la contamination environnementale sont principalement focalisées sur l'analyse de sédiment (majoritairement), de sol, d'eau et d'air. La plupart des études ont été réalisées dans la région des Grands Lacs (Amérique du Nord), en Chine, et un peu en Europe.

En 2011, deux revues relativement complètes concernant, entre autres, la prévalence des Dechloranes (surtout le DP) dans différents compartiments environnementaux, ont été publiées (Sverko et al., 2011 ; Xian et al., 2011). Les taux de DP rapportés dans les sédiments du lac Ontario (en aval du site de production de DP en Amérique du Nord) et du lac Erie sont de l'ordre de quelques ng/g MS à quelques centaines de ng/g MS , ce qui est plus élevé que ceux observés dans d'autres lacs et zones géographiques qui sont de l'ordre de quelques pg/g MS à

quelques ng/g MS (Hoh, et al., 2006 ; Xian et al., 2011). L'*anti*-DP est l'isomère de DP principalement retrouvé, ce qui est conforme à la signature des produits industriels.

Depuis 2011, d'autres études sont parues. En Espagne, Barón et al. (2012) ont rapporté des concentrations en Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603 et Dec-604) dans des échantillons de sédiment (rivière Ebre) de non détecté (n.d.) à 0,14 ng/g MS pour le Dec-602, 0,02 à 0,26 ng/g MS pour le Dec-603 et de 0,07 à 1,61 ng/g MS pour le DP. Le Dec-604 n'a pas été détecté. Ailleurs en Europe, Giulivo et al. (2017) ont rapporté des valeurs un peu plus élevées pour la somme de concentration des Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603 et Dec-604) dans des échantillons de sédiment collectés dans trois rivières en Europe, Evrotas (Grèce, n=12), Adige (Italie, n=20) et Sava (Slovénie, n=20) en 2014-2015. La somme des concentrations varie entre n.d. et 2,30, 3,67, et 2,80 ng/g MS pour l'Evrotas, l'Adige et la Sava, respectivement. Le Dec-604 n'a été détecté dans aucun des échantillons.

En Chine, une étude a rapportée des concentrations de DP, Dec-602 et Dec-603 dans des sédiments de rivière (n=22), les niveaux variant de n.d. à 1,1, 0,048 et 0,026 ng/g MS, respectivement (Sun et al., 2013). Dans cette étude, il a été suggéré que la source était urbaine (faible contamination rurale en amont) et que la marée (embouchure en aval) avait pour effet de redistribuer la contamination dans le sédiment. Ma et al. (2014) et Yu et al. (2015) ont rapporté des résultats portant respectivement sur 87 et 22 échantillons de sol en Chine. Dans ces deux études, seul le DP a été détecté à des concentrations variant de n.d. à 12,21 ng/g MS et de 0,051 to 2,10 ng/g MS, respectivement. Yu et al. (2015) avaient également recherché les Dec-602, -603 et -604, sans toutefois les détecter.

Depuis les années 1990, le taux de DP a diminué dans la regions des Grands Lacs (Sverko et al., 2008), à part ceux des échantillons collectés à proximité des sites de production de DP ou de sites de recyclage de déchets électroniques. Les niveaux obtenus par les différentes études décrites précédemment, apparaissent globalement du même ordre de grandeur, inférieures à celles rapportées dans des zones urbanisées en Chine et en Amérique du Nord. Aisni, dans l'ensemble, il apparaît que les effluents industriels sont majoritairement à l'origine de ces contaminations.

Quelques études ont fait état des niveaux de Dechloranes dans des échantillons d'eau collectés en Chine. Quarante-huit échantillons d'eau ont été collecté en 2006 dans 3 zones de la rivière de Songhua (zone rurale, urbaine et d'une section de la ville de Harbin). Le DP a été identifié

dans la zone urbaine à une moyenne égale à $0,55 \pm 0,81$ ng/L, soit 3 fois plus élevée que celle obtenue pour la section de Harbin ($0,17 \pm 0,38$ ng/L) et 15 fois supérieure à celle mesurée en zone rurale ($0,03 \pm 0,07$ ng/L) (Qi et al., 2010). Quinze échantillons d'eau (n=1 zone industrielle, n=2 zones urbaines, n=12 zones rurales) ont été collectés en 2008 dans les mers de Bohai et de Huanghuai (Jia et al., 2011). Le DP a été détecté à une moyenne de $1,74 \pm 1,59$ ng/L, les concentrations les plus élevées ayant été observées dans les échantillons collectés en zone urbaine. Six échantillons d'eau ont été collectés en 2006 près d'usines de recyclage de déchets électroniques. Le niveau de DP observé était de $0,8 \pm 0,1$ ng/L (Wu et al., 2010). Ces résultats suggèrent que les zones urbaines et industrielles peuvent représenter une source majeure de DP par rapport aux zones rurales, comme c'est le cas pour d'autres polluants historiques, notamment les polychlorobiphényles (PCB) et les PBDE. Ils suggèrent également la présence de particules auxquelles le DP serait adsorbé, les niveaux rencontrés étant parfois supérieurs à sa solubilité dans l'eau pure.

Des analyses ont été réalisées sur des échantillons d'air collectés dans différentes zones en Chine (Ren et al., 2008 ; Chen et al., 2011), en Suisse (Vorkamp et al., 2015), en Arctique et en Antarctique (Möller et al., 2010) et au Népal (Yadav et al., 2017). Les niveaux de DP dans les zones urbaines et sujettes à une activité de recyclage de déchets électroniques (ordre du pg/m^3 et du ng/m^3) en Chine sont supérieurs à ceux rapportés pour les zones rurales, en Suisse et dans les zones froides et reculées (Népal, Arctique et Antarctique) (quelques pg/m^3). Ainsi, ces résultats démontrent la présence de DP loin des sites de production et des zones urbaines, suggérant un transport et une diffusion dans l'environnement sur de longues distances.

En résumé, le DP est le Dechlorane émergent le plus analysé. Il a été détecté dans les différents compartiments environnementaux abiotiques (sédiment, eau et air) suivant des niveaux plus élevés en zones urbaines suggérées comme lieux d'émissions. Le DP est cependant transporté sur de longues distances dans l'environnement, jusque dans les pôles et les zones alpines.

1.2.3.2. Biote

Plusieurs études récentes de prévalence des Dechloranes dans des matrices du biote ont été publiées pour différentes régions du monde. Les résultats majeurs sont rassemblés principalement dans trois revues (Xian et al., 2011 ; Feo et al., 2012 ; Wang et al., 2016) focalisant sur les biotes terrestre et aquatique. Les poissons ont été largement utilisés pour surveiller la pollution des écosystèmes aquatiques. Comme pour les matrices

environnementales, le DP est le composé le plus analysé et détecté dans les échantillons biotiques. D'après ces revues, les taux de Dechloranes chez les poissons collectés à proximité d'usines de recyclage de déchets électroniques en Chine sont plus élevés que ceux d'échantillons collectés en Amérique du Nord, et les taux en des zones urbaines sont beaucoup plus élevés qu'en zones rurales. Nous allons présenter principalement les niveaux de Dechloranes rapportés dans des échantillons du biote aquatique collectés en Asie, en Amérique du Nord et en Europe.

Kang et al. (2010) font état des niveaux de concentration en DP dans 5 espèces de poisson (mulet, gobie, barbeau, carassin et bar, n=22) collectées en 2008 au niveau de 22 sites fluviaux (15 en zone urbaine-industrielle, 3 en zone rurale-industrielle et 4 en zone rurale) en Corée du Sud. Le DP a été détecté dans tous les échantillons à une concentration qui varie entre 0,61 et 126 ng/g MG avec une contamination moyenne de l'ordre de 25 ng/g MG. Les auteurs ont observé que la moyenne des concentrations était 25 fois plus élevée dans les échantillons issus des sites urbains par rapport à ceux issus de sites ruraux.

En Chine, plusieurs études ont rapporté des données sur les niveaux de concentration des Dechloranes dans différentes espèces aquatiques. Tao et al. (2015) ont étudié les niveaux des Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603, Dec-604 et Dec-604CB) dans des échantillons d'anabas, un poisson asiatique (n=9 composites), collectés en 2013 dans différentes zones d'une rivière à proximité de sites de recyclage de déchets électroniques et recevant des déchets solides et liquides au sud de la Chine. Les concentrations moyennes rapportées en DP, Dec-602 et Dec-603 sont respectivement de 150 (comprises entre 18 et 440), 8,8 (3 à 16) et 0,41 (n.d. à 1,3) ng/g MG. Le Dec-604 et le Dec-604CB n'ont pas été détectés dans les échantillons de l'étude. Sun et al. (2016) ont analysé des échantillons de 3 espèces de poissons (carpe de vase, tilapia du Nil et pléco commun) collectés en 2014 dans le delta de la rivière des Perles au sud de la Chine. Le DP a été détecté à des concentration variant entre 0,09 et 82 ng/g MG. La concentration la plus élevée a été observée dans un échantillon collecté à proximité d'un site de recyclage de déchets électroniques, indiquant que cette activité constitue une source primaire de DP et que les émissions des activités humaines industrielles, commerciales et domestiques représentent une autre source importante de DP dans cette région. A l'écart de ces sources, Sun et al. (2015) ont analysé 4 espèces (crabe et poissons, n=22) en 2012 dans une réserve naturelle du sud de la Chine. Les concentrations de DP varient entre 0,18 et 6,88 ng/g MG, ce qui est plus faible que dans les deux études relatives aux sites de recyclage. Dans le même ordre de

grandeur, Sun et al. (2017) ont détecté le DP dans 6 espèces du biote marin (poisson, crabe et mollusque, n=29) collectés en 2014 en mer de Chine méridionale, à des concentrations qui varient entre n.d. et 8,77 ng/g MG.

En Amérique du Nord, Tomy et al. (2007) ont rapporté des niveaux de DP dans des échantillons du biote aquatique de deux Grands Lac. Les concentrations varient entre 0,02 et 4,41 ng/g MG. Ismail et al. (2009) ont détecté du DP dans des truites collectées dans la même région entre 1979 et 2004 à des concentrations qui sont sensiblement du même ordre de grandeur (2,3 à 7,2 ng/g MG).

En Europe, nous avons retenu quatre études ayant traité de la prévalence des Dechloranes dans le biote aquatique.

En Europe du Sud, Barón et al. (2012) ont fait état des niveaux des Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603 et Dec-604) dans des échantillons de poisson (barbus, silure, carpe commune, n=4) collecté dans cinq sites en Espagne (rivière Èbre). Ils ont détecté le DP, le Dec-602 et le Dec-603 à des concentrations qui varient entre n.d. et 2,24, 86,1 et 4,52 ng/g MG, respectivement. Les niveaux de Dec-602 étaient ainsi supérieurs à ceux du DP. Santín et al. (2013) ont analysé 48 échantillons de poissons (15 espèces, dont le silure et le saumon) collectés dans 4 fleuves (Llobregat, Èbre, Júcar et Guadalquivir). Ils ont observé des concentrations du même ordre de grandeur de celles obtenues par Barón et al., avec dominance du Dec-602 par rapport au DP et au Dec-603. Encore une fois, le Dec-604 n'a été détecté dans aucun des échantillons. Une autre étude récente a rapporté les niveaux en Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603 et Dec-604) dans des 8 espèces de poissons (n=27) échantillonnées en 2014 et 2015 dans trois bassins fluviaux européens (Adige en Italie, Sava en Slovénie et Evrotas en Grèce) (Giulivo et al., 2017). Les Dechloranes ont été détectés uniquement dans les échantillons de l'Adige et de la Sava, à des moyennes de 7,59 et 3,00 ng/g MG, respectivement en Italie et en Slovénie. Le Dec-604 a été détecté seulement dans 54% des échantillons de l'Adige.

En Europe, du Nord, les niveaux semblent plus élevés. Une étude récente (Rjabova et al., 2016) a focalisé sur des saumons (n=25) prélevées dans deux rivières en Lettonie (Daugava et Venta). Comme en Espagne, le Dec-602 a été le composé le plus fréquemment détecté, avec une moyenne de 370 ± 179 pg/g MG ($14,8 \pm 6,25$ pg/g PF). Le DP et le Dec-603 ont toutefois également été quantifiés à des concentrations moyennes égales à 245 ± 366 pg/g MG ($11,34 \pm$

17,15 pg/g PF) et 36,4 pg/g MG (0,98 pg/g PF), respectivement. Le Dec-604 n'a été détecté dans aucun échantillon.

En France, à notre connaissance, une seule étude, valorisée par affiche au congrès Brominated Flamme Retardants (York, Royaume-Uni) (Lauzent et al., 2017) fait état de niveaux de contamination en DP et Dec-603 dans des poissons (n=18) et des invertébrés benthiques (n=55) collectés dans la Garonne en 2012, qui n'est pas considérée comme subissant une pression anthropique très élevée pour la France. Le DP a été détecté dans tous les échantillons (*anti*-DP, 96% ; *syn*-DP, 100%) alors que le Dec-603 dans 75%. Les niveaux de DP et de Dec-603 rapportés dans cette étude sont très faibles (quelques dizaines de pg/g PF) par rapport aux autres études européennes ou à ceux en PCB (quelques dizaines de ng/g PF). La concentration moyenne en Dec-603 (0,02 ng/g PF) est plus élevée que celle en DP (0,01 ng/g PF), ce qui semble être une singularité de la France.

Pour résumer, dans le biote, les études de contamination réalisées concernent essentiellement le DP, parfois le Dec-602, le Dec-603 et le Dec-604. Dans l'ensemble des études mentionnées ci-dessus, il apparaît que les taux en Dechloranes des poissons d'eaux douces provenant de régions industrielles et urbaines sont nettement supérieurs à ceux des poissons provenant de mers ouvertes ou de zones rurales. Les niveaux de DP détectés dans les pays asiatiques, en Amérique de Nord et proche de sites de production, sont supérieurs (jusqu'à plusieurs centaines de ng/g MG) à ce qui a été rapporté pour Europe (jusque quelques ng/g MG). Pour le Dec-602 et le Dec-603, les niveaux détectés en Chine sont inférieurs à ceux du DP, inversement à ce qui est observé en Europe. Le Dec-604 a rarement été détecté en Asie et en Europe, suggérant qu'il n'est pas très utilisé dans ces régions. Il convient de noter qu'une seule étude a abordé la question des tendances temporelles dans le biote. En effet, il est rapporté que les taux de DP de truites collectées dans le lac Ontario (région des Grands Lacs, Amérique du Nord) ont diminué depuis 1990, suivant une demi-vie estimée à 14 ans (Ismail et al., 2009).

1.2.3.3. Exposition alimentaire

Les polluants chimiques peuvent, selon leur nature, migrer vers les compartiments environnementaux (l'eau, le sol et l'air) et entrer en contact avec les populations *via* des voies d'expositions variées (alimentaire, respiratoire, cutanée), représentées ci-dessous **Figure 10**.

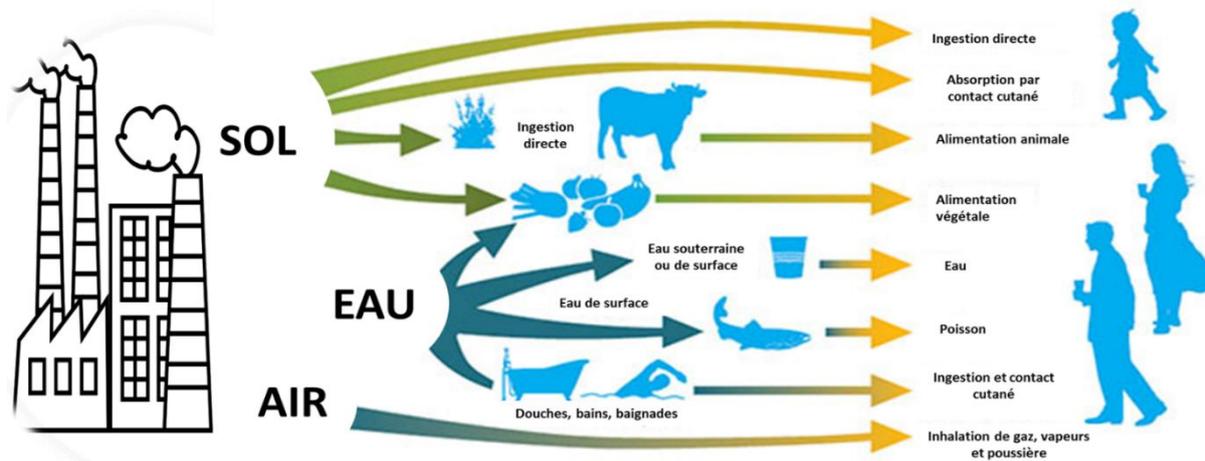


Figure 10 : Voies d'exposition de l'homme aux contaminants chimiques (d'après <https://www.bretagne.ars.sante.fr/sites-et-sols-pollues-0>).

A notre connaissance, les calculs d'expositions respiratoire et cutanée ne sont pas documentés et nous allons ainsi limiter notre intérêt à l'exposition alimentaire, voie d'exposition usuellement dominante pour les contaminants de type POP pour la population générale. Toutefois, peu d'études ont décrit l'exposition alimentaire de l'homme aux Dechloranes. Ces études sont toutes relativement récentes, en accord avec le caractère émergent de ces composés. La plupart des résultats de contaminations en Dechloranes dans les aliments sont exprimées sur la base du poids frais (PF), pour donner du sens par rapport au bol alimentaire (**Tableau 4**).

Au Japon, Kakimoto et al. (2012) ont investigué l'apport journalier en DP par l'analyse de 20 échantillons de poisson obtenus en juin 2011 dans des supermarchés localisés à Osaka. Le DP a été détecté dans 90% des échantillons à des concentrations variant de n.d. ($<0,2$ pg/g PF) à $14,2$ pg/g PF. Dans cette étude, les auteurs ont estimé l'apport journalier en DP par ingestion de poisson à $2,4$ pg/kg de poids corporel (p.c.) pour population Japonaise (approximativement $0,139$ ng/jour par individu). En 2018, une étude plus complète, valorisée par affiche au congrès Dioxin (Cracovie, Pologne) fait état de niveaux de contamination en Mirex, DP, Dec-602, Dec-603, Dec-604 et CP dans une campagne d'échantillons alimentaires ($n=166$) incluant différents groupes ($n=13$) tels que poisson, riz, céréales, sucre, huiles et matières grasses, fruits, légumes, boissons, fruit de mer, viande, œuf, produits laitiers, ... obtenus dans 10 régions du Japon en 2016 (Yasutake et al., 2018). Le Mirex, le DP, le Dec-602, le Dec-603 et le CP ont été détecté à des moyennes égales à $0,35$, $3,06$, $3,3$, $0,12$ et $0,029$ pg/g PF, respectivement. La moyenne la plus élevée de Dec-602 a été observée dans le groupe des poissons alors que, pour le DP, il s'agissait du groupe des huiles et des graisses. Le Dec-604 et le CP ont été rarement

détectés, le cas échéant à des concentrations assez faibles. Le Dec-604 a été détecté dans 3 échantillons seulement (groupe fruits, groupe viande et œuf) avec une moyenne égale à 0,014 pg/g PF. Le CP a été détecté principalement dans le groupe des poissons et le groupe de viande et d'œuf. Globalement, l'apport journalier en Dechloranes a été estimé à 7,6 ng/jour pour la population Japonaise.

En Corée du Sud, Kim et al. (2014) ont fait état des niveaux en Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603 et Dec-604) dans 175 échantillons d'aliments stratifiés en 35 groupes collectés en 2011 dans 5 régions (Séoul, Daejeon, Gangneung, Gwangju et Busan). Le DP, le Dec-602 et le Dec-603 ont été détectés à des concentrations qui varient entre n.d. et 170, 20,8 et 0,4 pg/g PF (8144, 377 et 7,83 pg/g MG), respectivement. Le Dec-604 n'a pas été détecté. Le DP est le composé dominant, atteignant un maximum dans un échantillon de maquereau d'Espagne. Au regard des statistiques d'habitudes alimentaires, les auteurs ont estimé l'apport journalier, qui couvre 43,7% du bol alimentaire, à 11,7 ng/jour (lowerbound) (DP, Dec-602 et Dec-603), soit un peu plus qu'au Japon. Le DP est le composé le plus contributeur (un à trois ordres de grandeur de plus en comparaison du Dec-602 et du Dec-603). Étonnamment, les céréales sont considérées comme les plus forts contributeurs (34,7%), alors que les algues, les fruits ainsi que les plantes sont considérés comme les plus faibles contributeurs (0,2 à 0,6 %). Dans le cas du DP, le riz (3,9 ng/jour) présente la contribution la plus élevée en apport journalier, suivi du lait (2,1 ng/jour) et du porc (1,2 ng/jour). La question du type de riz (cuit, cru, frit, ...) analysé dans cette étude reste flou, pour savoir l'origine de cette contamination. En comparant les apports journaliers uniquement dus au poisson, Kim et al. (2014) ont estimé que la population Coréenne ingérait 867,1 pg/jour de DP, soit plus que ce qui a été estimé par Kakimoto et al. (2012) pour la population Japonaise (approximativement 139 pg/jour). Cela souligne que le poisson ne peut être considéré seul pour estimer l'exposition alimentaire en Dechloranes d'une population.

En Belgique, deux études réalisées par L'Homme et al. (2015) et Poma et al. (2018) ont rapporté des niveaux de Dechloranes (limité au DP pour l'étude de Poma et al.) dans différentes matrices alimentaires d'origine animale (viandes, œufs, produits laitiers...) collectées en supermarchés en 2015 (n=88 échantillons) et 2015-2016 (n=183 échantillons composites), respectivement. Le Dec-604 n'a pas été observé. Les autres composés ont été détectés à des niveaux de quelque pg/g MG avec une prédominance du DP pour toutes les matrices. En se basant sur les habitudes alimentaires de la population belge et sur les tables de composition des aliments, les auteurs ont estimé que la population belge ingère 0,136 ng/jour (upperbound) de Dechloranes (DP, Mirex,

Dec-602, Dec-603 et CP). L'œuf a été considéré comme le plus fort contributeur et le poulet le plus faible. Dans l'étude de Poma et al. (2018), avec une limite de quantification plus élevée, seulement trois échantillons composites (viande, œuf, lait et produits laitiers) ont révélé des concentrations, égales à 10, 159 et 9 pg/g PF, respectivement, corroborant la première étude belge.

Aznar-Alemany et al. (2017) ont rapporté l'occurrence des Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603 et Dec-604) dans 42 échantillons marins, crus ou cuits, consommés en Europe, provenant différentes régions (mer Méditerranée, mer du Nord, nord-est de l'océan Atlantique, océan Pacifique et Inde). La moyenne des Dechloranes dans ces différents groupes d'échantillons varie entre n.d. et 72,9 ng/g MG.

En résumé, il apparaît un manque de données confortées de l'exposition alimentaire des populations aux Dechloranes. Les rares études réalisées couvrent surtout trois pays. Si les études traitant du Japon (7,6 ng/jour) et de la Corée du Sud (11,2 ng/j) apparaissent robustes, celles traitant de la Belgique sont basées sur un nombre d'échantillons plus ou moins faible et/ou des groupes alimentaires ne couvrant pas l'ensemble du bol alimentaire (136,2 pg/jour *via* les huiles végétales et denrées alimentaires d'origine animale – DAOA). Les DAOA apparaissent toutefois comme des contributeurs majeurs, en accord avec les propriétés de POP que présentent les Dechloranes. De plus, en l'absence de VTR, ces études ne permettent pas de conclure quant au risque toxicologique. L'exposition alimentaire (ou exposition externe) apparaît cependant avérée, appelant à caractériser l'imprégnation en découlant (exposition interne) et que quelques équipes ont également documenté.

Tableau 4 : Niveaux de prévalence des Dechloranes rapportés dans la littérature pour les denrées alimentaires. <LOD, non détecté ; n.q., non quantifié.

Groupes d'aliments	Pays	Echantillons	Composé	Niveau de prévalence (moyenne)	Référence
Viande	Japon	Viande et œuf (n=9)	DP	3,34 pg/g PF	Yasutake et al., 2018
			Dec-602	2,6 pg/g PF	
			Dec-603	0,28 pg/g PF	
			Dec-604	0,022 pg/g PF	
			CP	0,042 pg/g PF	
	Corée du Sud	Viande (n=35)	DP	51,86 pg/g PF	Kim et al., 2014
			Dec-602	3,54 pg/g PF	
			Dec-603	0,06 pg/g PF	
			Dec-604	<LOD	
	Belgique	Porc (n=8)	DP	10,98 pg/g MG	L'Homme et al., 2015
			Dec-602	0,43 pg/g MG	
			Dec-603	0,26 pg/g MG	
			Dec-604	n.q.	
			CP	0,08 pg/g MG	
		Poulet (n=8)	DP	9,08 pg/g MG	
Dec-602			0,4 pg/g MG		
Dec-603			0,13 pg/g MG		
Dec-604			n.q.		
CP			0,07 pg/g MG		
Poisson et fruit de mer	Japon	Poisson (n=20)	DP	2,23 pg/g PF	Kakimoto et al., 2012
	Japon	Poisson et fruit de mer (n=21)	DP	2,64 pg/g PF	Yasutake et al., 2018
			Dec-602	35 pg/g PF	
			Dec-603	0,46 pg/g PF	

	Corée du Sud	Poisson (n=70)	Dec-604	<LOD	Kim et al., 2014
			CP	0,21 pg/g PF	
			DP	36,34 pg/g PF	
			Dec-602	3,99 pg/g PF	
			Dec-603	0,01 pg/g PF	
	Belgique	Saumon (n=8)	Dec-604	<LOD	L'Homme et al., 2015
			DP	5,39 pg/g PF	
			Dec-602	0,31 pg/g PF	
			Dec-603	0,58 pg/g PF	
			Dec-604	n.q.	
	Europe	Fruit de mer (n=42)	DP	Σ Dec=8,96 ng/g MG	Aznar-Alemanly et al., 2017
			Dec-602		
Dec-603					
Dec-604					
Œuf	Corée du Sud	Œuf (n=5)	DP	15,31 pg/g PF	Kim et al., 2014
			Dec-602	<LOD	
			Dec-603	<LOD	
			Dec-604	<LOD	
	Belgique	Œuf (n=8)	DP	26,27 pg/g MG	L'Homme et al., 2015
			Dec-602	1,28 pg/g MG	
			Dec-603	2,76 pg/g MG	
			Dec-604	n.q.	
	Japon	Lait et produits laitiers (n=9)	CP	0,94 pg/g MG	
			DP	1,12 pg/g PF	Yasutake et al., 2018
			Dec-602	0,38 pg/g PF	
			Dec-603	0,056 pg/g PF	
Dec-604	<LOD				

			CP	<LOD	
	Corée du Sud	Produits laitiers (n=15)	DP	34,39 pg/g PF	Kim et al., 2014
			Dec-602	0,09 pg/g PF	
			Dec-603	<LOD	
			Dec-604	<LOD	
	Belgique	Lait (n=16)	DP	17,61 pg/g MG	L'Homme et al., 2015
			Dec-602	0,89 pg/g MG	
			Dec-603	1,06 pg/g MG	
			Dec-604	n.q.	
			CP	0,26 pg/g MG	
Huiles et Graisses	Japon	Huiles et matières grasses (n=5)	DP	18,5 pg/g MG	Yasutake et al., 2018
			Dec-602	0,50 pg/g MG	
			Dec-603	0,26 pg/g MG	
			Dec-604	<LOD	
			CP	0,020 pg/g MG	
	Corée du Sud	Graisses végétales (n=5)	DP	19,13 pg/g MG	Kim et al., 2014
			Dec-602	<LOD	
			Dec-603	<LOD	
			Dec-604	<LOD	
	Belgique	Graisses animales (n=18)	DP	19,10 pg/g MG	L'Homme et al., 2015
			Dec-602	0,75 pg/g MG	
			Dec-603	0,57 pg/g MG	
			Dec-604	n.q.	
			CP	0,16 pg/g MG	
		Huiles végétales (n=2)	DP	19,11 pg/g MG	
Dec-602			0,75 pg/g MG		
Dec-603			0,50 pg/g MG		

			Dec-604	n.q.	
			CP	0,20 pg/g MG	
	Espagne (Catalogne)	Huiles de poissons (n=15)	DP	28,64 pg/g MG	Von Eyken et al., 2016
			Dec-602	57,45 pg/g MG	
			Dec-603	12,1 pg/g MG	
			Dec-604	<LOD	
		Huiles végétales (n=2)	DP	49,15 pg/g MG	
			Dec-602	<LOD	
			Dec-603	<LOD	
			Dec-604	<LOD	
		Mélange d'huile végétale et de poisson (n=2)	DP	76,6 pg/g MG	
			Dec-602	16,3 pg/g MG	
			Dec-603	14,55 pg/g MG	
			Dec-604	<LOD	

1.2.3.4. Données d'imprégnation

Pour les substances chimiques, l'exposition interne est un intégrateur de l'ensemble des expositions externes (alimentaire, respiratoire, cutanée). La caractérisation de l'imprégnation permet donc de mesurer plus finement la réalité du risque. Concernant les Dechloranes, même avec la présence potentielle de métabolites (§ 1.2.2.), les composés d'intérêts restent les composés parents. Quelques études d'imprégnation humaine en Dechloranes sont disponibles, majoritairement en Chine où le sujet semble avoir reçu un écho assez tôt, vraisemblablement en raison de l'exposition occupationnelle en lien avec l'activité de recyclage de déchets électroniques, mais également en Europe et en Amérique du Nord (**Tableau 5**).

En Chine, plusieurs études se sont focalisées sur l'analyse du DP dans le sérum et les cheveux. Parmi elles, trois études focalisent sur l'activité de recyclage de déchets électroniques comme source primaire d'exposition (Ren et al., 2009 ; Yan et al., 2012 ; Chen et al., 2015). Les niveaux des Dechloranes décrits dans ces études sont de l'ordre de quelques dizaines à quelques centaines de ng/g MG. Il semble que ces niveaux ont augmenté au cours du temps (approximativement 4 fois), mais il est délicat de comparer ces études. En revanche, les concentrations sériques de DP observées près de sites de recyclage de déchets électroniques sont sensiblement supérieures à celles rapportées pour des groupes contrôle. En complément pour la Chine, deux autres études ont rapporté les niveaux de DP dans du sérum et des cheveux (He et al., 2013 ; Qiao et al., 2018). Les niveaux sériques en DP de ces deux études restent comparables à ceux des groupes contrôles des études en lien avec les sites de recyclage de déchets électroniques. Concernant les cheveux, les niveaux sériques de DP de l'étude de Chen et al. (2015) sont supérieurs à ceux des échantillons de cheveux, suggérant une vitesse de transport différents de ces composés dans ces deux compartiments.

En Europe, deux études ont rapporté les niveaux des Dechloranes (DP, Dec-602, Dec-603, voire Dec-604 et CP) dans des échantillons de sérum humain (Brasseur et al., 2015 ; Fromme et al., 2015). Les niveaux de DP détectés dans ces études se situent dans la fourchette basse par rapport à ceux décrits en Chine. Les profils de contamination observés dans ces deux études sont néanmoins différents puisque le Dec-603 est majoritaire en France, ce qui fait écho aux résultats rapportés par Lauzent et al. (2017) dans le biote, alors que le DP domine en Allemagne. Il serait utile de comprendre les déterminants de telles différences.

Au Canada, une étude s'est intéressée au lait maternel (Siddique et al., 2012). Les concentrations observées en DP varient entre n.d. et 8,0 ng/g MG, avec une moyenne égale à $0,98 \pm 1,34$ ng/g MG et une médiane égale à 0,60 ng/g MG. S'il est impossible de commenter ces valeurs au regard de taux sériques en l'absence de toute étude traitant du taux de transfert entre ces deux compartiments, cela documente l'exposition du nouveau-né allaité. Toutefois, ces niveaux sont plus faibles que ceux en PBDE rapportés par la même étude.

En conclusion, les données de prévalence disponibles dans la littérature sur les Dechloranes sont encore très partielles. Le DP reste le composé majoritairement recherché. De nombreux compartiments, de l'environnement jusqu'à l'homme, sont contaminés. Lorsque disponible, le profil de contamination en Dechloranes apparaît variable d'un pays à l'autre et d'une matrice à l'autre. Les données de prévalence concernant la France, le Liban ou encore le continent africain font défaut, ce sur quoi le présent projet entend contribuer. Pour ce faire, il était avant tout nécessaire de développer une stratégie analytique dédiée à l'analyse des Dechloranes à l'état de traces dans des matrices biologiques complexes, en s'appuyant sur les données bibliographiques décrites ci-après.

Tableau 5 : Données d'imprégnation des Dechloranes disponibles dans la littérature. LOD : limite de détection.

Pays	Matrice	Echantillonnage	Composé	Niveau d'exposition	Référence
Chine	Sérum (n=20)	Proximité d'un site de recyclage des déchets électroniques (Guiyu)	DP	39,8 ng/g MG (moyenne)	Ren et al., 2009
	Sérum (n=20)	Zone rurale (à 50 km du site de recyclage)	DP	11,8 ng/g MG (moyenne)	
	Sérum (n=70)	Salariés d'ateliers de de recyclage des déchets électroniques (Longtang)	DP	150 ng/g MG (médiane)	Yan et al., 2012
	Sérum (n=13)	Zone rurale (à 50 km du site de recyclage)	DP	4,6 ng/g MG (médiane)	
	Sérum (n=34)	Proximité d'un site de recyclage (Longtang)	DP	190 ng/g MG (médiane)	Chen et al., 2015
	Cheveux (n=34)		DP	46 ng/g MS (médiane)	
	Sérum (n=305 ; 10 échantillons composites)	A 10 km de sites de production de produits chimiques (Laizhou)	DP	3,6 ng/g MG (moyenne)	He et al., 2013
	Sérum (n=43)	Université de Sun Yat-sen (Guangzhou)	<i>anti</i> -DP	<LOQ (<0,37 ng/g MG)	Qiao et al., 2018
			<i>syn</i> -DP	<LOQ (<5,14 ng/g MG)	
Cheveux (n=43)	<i>anti</i> -DP		0,14 ng/g MS (médiane)		
	<i>syn</i> -DP		<LOQ (<0,14 ng/g MS)		
Europe	Sérum (n=48)	Besançon, France	DP	1,40 ng/g MG (moyenne)	Brasseur et al., 2015
			Dec-602	0,64 ng/g MG (moyenne)	
			Dec-603	2,61 ng/g MG (moyenne)	
			Dec-604	<LOD (<0,3 pg/µL)	
			CP	0,20 ng/g MG (moyenne)	
	Sérum (n=42)	Munich, Allemagne	<i>anti</i> -DP	1,23 ng/g MG (médiane)	Fromme et al., 2015
			<i>syn</i> -DP	0,77 ng/g MG (médiane)	
			Dec-602	0,23 ng/g MG (médiane)	
Dec-603			0,09 ng/g MG (médiane)		
Canada	Lait maternel (n=87)		DP	0,98 ng/g MG (moyenne)	Siddique et al., 2012

1.2.4. STRATÉGIES ANALYTIQUES DÉDIÉES AUX DECHLORANES

Cette partie vise à établir un état de l'art concernant les méthodes utilisées pour l'analyse des Dechloranes. Comme précédemment décrit, les Dechloranes sont des composés lipophiles. Les méthodes généralement employées pour l'analyse des RF halogénés dérivent le plus souvent de celles développées pour l'analyse des polychlorobiphényles de type non dioxin-like (PCB-NDL), qui sont relativement proches en termes de propriétés physico-chimiques. L'identification et la quantification de ce type de composés à très faible concentration (quelques ng/g à quelques pg/g) dans des matrices abiotiques et biotiques complexes requiert d'une part une préparation de l'échantillon (extraction et purification) très performante et d'autre part une technique de mesure très sensible et spécifique autorisant l'identification non ambiguë des analytes ciblés (Sverko et al., 2011 ; Xian et al., 2011 ; Feo et al., 2012 ; Wang et al., 2016). L'analyse repose sur la connaissance et la maîtrise du devenir des substances à chacune des étapes.

1.2.4.1. Techniques d'extraction

Cette première étape de préparation consiste à co-extraire les Dechloranes avec la matière grasse à l'aide d'un solvant spécifique *via* un mécanisme chimique et/ou mécanique. Selon la littérature, différentes techniques ont été appliquées à l'analyse des Dechloranes, telles que l'extraction liquide-liquide (Ma et al., 2011 ; Xian et al., 2011), le Soxhlet (Qiu et al., 2007 ; Möller et al., 2010 ; Jia et al., 2011 ; Sun et al., 2015 ; Wang et al., 2015 ; Yu et al., 2015 ; Sun et al., 2017 ; Yadav et al., 2017 ; Qiao et al., 2018 ; Tang et al., 2018) et l'extraction liquide sous pression (PLE) (Santín et al., 2013 ; Barón et al., 2014 ; Houde et al., 2014 ; Aznar-Alemany et al., 2016 ; Gagné et al., 2017 ; Giulivo et al., 2017). Le choix entre ces méthodes est notamment dépendant du type de matrice à analyser (Xian et al., 2011). Dans le cas des matrices solides et avant extraction, l'échantillon doit être le plus souvent homogénéisé, broyé et parfois lyophilisé.

Feo et al. (2012) ont rapporté dans leur revue que la PLE et le Soxhlet sont les deux techniques d'extractions les plus répandues pour l'analyse des Dechloranes par divers mélanges de solvants tels que décrits ci-dessous.

L'extraction par Soxhlet est une technique relativement répandue pour les matrices solides mais qui est considéré comme assez longue et couteuse. Selon la littérature, différents types de solvants ont été utilisés, tel que des mélanges acétone/*n*-hexane (1:1 ou 1:3, *v/v*) pendant 22, 24

ou 48 heures (Hoh et al., 2006 ; Qiu et al., 2007 ; Chen et al., 2011 ; Jia et al., 2011 ; Yu et al., 2010, 2015 ; Sun et al., 2012, 2014, 2017 ; Sun et al., 2015 ; Tang et al., 2018 ; Qiao et al., 2018), *n*-hexane/dichlorométhane (1:1 ou 3:1, v/v) pendant 16 ou 24 heures (Yang et al., 2011 ; Vorkamp et al., 2015 ; Kang et al., 2016 ; Sun et al., 2016) ou dichlorométhane pur (DCM) pendant 24 heures (Guerra et al., 2011 ; Sun et al., 2013 ; Fang et al., 2014).

L'extraction par PLE est une technique automatisée et considérée économe en temps. Son principe consiste à extraire sous pression un échantillon solide avec un solvant (ou mélange de solvants) porté à haute température afin d'accélérer le processus d'extraction. L'échantillon solide (broyé) est placé dans une cellule d'extraction en acier inoxydable supportant les conditions. Le solvant est pompé dans la cellule et celle-ci est portée à la température d'extraction voulue (la pression dans la cellule est ajustée selon la température). Après une durée d'extraction déterminée, la vanne en sortie de cellule est ouverte : le liquide contenu dans la cellule est transféré dans un vial de collecte. Une purge de la cellule à l'azote permet de maximiser la collecte du solvant et des composés extraits. Différents facteurs peuvent agir sur l'efficacité de la PLE, tels que la nature du solvant, la température, la pression et le temps d'extraction :

- Le solvant d'extraction utilisé doit être sélectif, capable d'extraire le maximum de composés d'intérêt, possiblement co-extraits avec la matière grasse, et de minimiser la co-extraction des autres composants de la matrice.
- Une température élevée diminue la viscosité du solvant, facilite sa pénétration dans la matrice et par la suite accélère le processus d'extraction.
- Une haute pression facilite l'extraction des composés situés dans les pores de la matrice qui ne sont normalement pas atteints par le solvant à pression atmosphérique.
- La durée du cycle d'extraction est importante pour élaborer des périodes de contact prolongées entre la matrice et le solvant, ce qui aboutit à une pénétration accrue du solvant dans l'échantillon et un contact plus important du solvant avec le composé d'intérêt.

D'après la littérature, le mélange *n*-hexane/dichlorométhane (1:1, v/v) est le plus utilisé pour l'extraction des Dechloranes à partir de divers types de matrice tels que le poisson, la boue et le sédiment (Barón et al., 2012 ; Barón et al., 2014 ; Houde et al., 2014 ; Giulivo et al., 2017). Concernant les autres paramètres, tous les auteurs utilisent une pression approximativement de 100 bar (1500 psi), une température de 100 °C, 5 min de réchauffement du four et deux cycles statiques de 10 min chacun.

Globalement, ces techniques d'extraction restent peu spécifiques, ce qui implique ensuite une purification performante des extraits obtenus.

1.2.4.2. Techniques de purification

Afin d'éliminer au mieux les composés interférents liés à la matrice et qui pourraient perturber la détection des analytes cibles (par exemple *via* un phénomène de suppression d'ion), les échantillons doivent être purifiés après extraction tout en conservant un rendement d'extraction acceptable. La technique choisie doit idéalement présenter une excellente sélectivité (élimination efficace des lipides et autres interférents) tout en étant facile et rapide à mettre en œuvre et en limitant la consommation de solvants.

Diverses méthodes de purification appliquées aux Dechloranes ont été décrites dans la littérature. Les plus répandues sont la chromatographie par perméation de gel (CPG) et la chromatographie sur colonne ouverte, utilisées seules ou en combinaison. Le choix de la méthode de purification dépend du type de matrice analysée et des propriétés des composés d'intérêts.

La CPG, également appelée chromatographie d'exclusion stérique, est principalement utilisée dans notre contexte pour éliminer la plus grande partie des composés co-extraits de poids moléculaires élevés (ex : lipides). La CPG est une technique non dénaturante, considérée comme une alternative intéressante à la méthode de purification par l'acide sulfurique concentré qui conduit à une dégradation de certains analytes d'intérêts (Barón et al., 2012). La **Figure 11** décrit le principe général de la CPG. Les pores de la phase stationnaire (granules de gel) imposent un chemin plus long pour les petites que pour les grandes molécules, ces dernières étant plus rapidement éluées. Dans la plupart des études, le support Bio-Beads S-X3 est la phase stationnaire utilisée. Il s'agit de billes poreuses copolymériques réticulées de polystyrène divinylbenzène utilisées pour des substances lipophiles dans une gamme d'exclusion comprise entre 400 et 2 000 Daltons. Dans le cas des DRC, cette phase a été utilisée avec des mélanges acétate d'éthyle/cyclohexane (1:1, v/v) ou *n*-hexane/dichlorométhane (1:1, v/v) comme phase mobile (Kang et al., 2010 ; Wu et al., 2010 ; Guerra et al., 2011 ; Law et al., 2013 ; Sühring et al., 2014 ; Zhu et al., 2014 ; Rjabova et al., 2016).

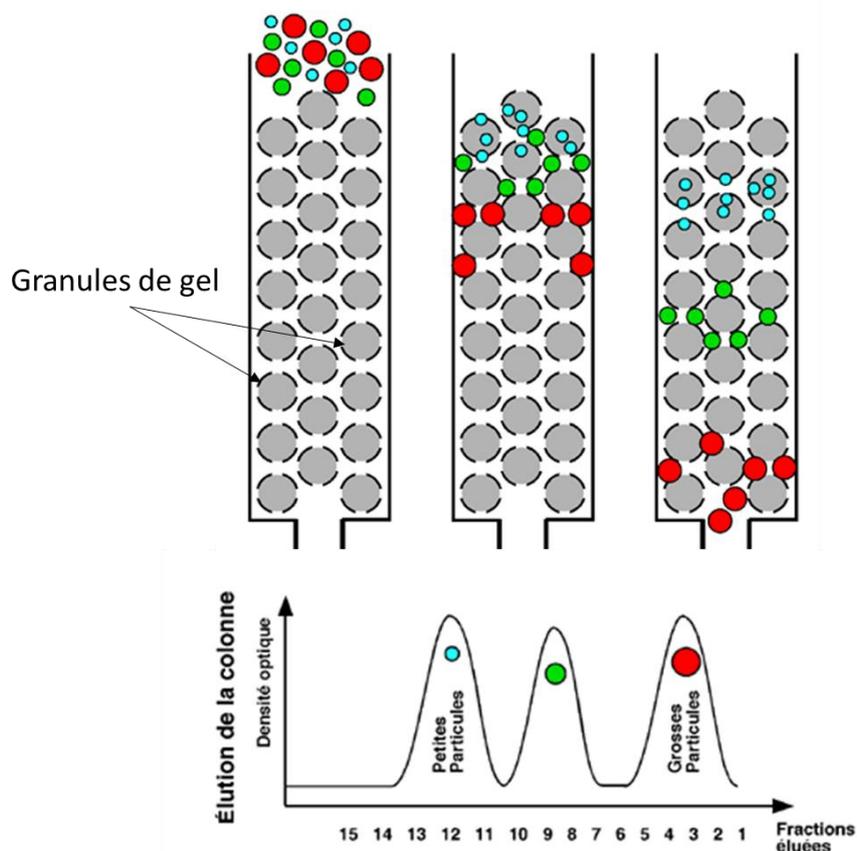


Figure 11 : Principe général de la chromatographie d'exclusion stérique (d'après <http://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/5e.html>).

L'extraction sur phase solide repose sur l'interaction des composés de l'extrait avec une phase stationnaire. Les composés sont entraînés par une phase mobile, dont la nature permet éventuellement de les éluer. Les constituants de l'extrait se séparent par migration différentielle : chacun d'eux est d'autant plus entraîné par l'éluant qu'il est plus soluble dans celui-ci et moins adsorbé sur la phase stationnaire. D'après les deux revues publiées, les colonnes utilisées pour la purification des Dechloranes peuvent être remplies d'une seule ou de plusieurs couches de phases stationnaires (silice neutre, acide et/ou basique, Florisil®, alumine et charbon) (Feo et al., 2012 ; Wang et al., 2016 ; Na et al., 2017 ; Kim et al., 2018 ; Qiao et al., 2018 ; Tang et al., 2018). La silice acide, activée à l'acide sulfurique, est utilisée pour dégrader et éliminer les lipides. La silice basique, activée à l'hydroxyde de potassium, a pour effet d'éliminer les interférents polaires acides. Suivant les quantités de phase nécessaires, variables selon la prise d'essais et le type de matrice analysé, les colonnes peuvent être remplies manuellement ou être commercialement pré-remplies. Les petites cartouches sont utilisées pour des prises d'essais plus faibles et nécessitent des volumes de solvants moindres. L'ajout d'une

couche de sulfate de sodium dans les colonnes de silice est recommandée pour piéger les traces d'eau et assurer des conditions anhydres. Pour les échantillons de sédiments, Wang et al. (2016) ont rapporté que l'utilisation de cuivre après l'extraction permet d'éliminer le soufre. D'après la littérature, la sélectivité des méthodes est achevée en jouant sur la polarité et les volumes d'éluant des solvants. Le *n*-hexane est le solvant le plus largement utilisé pour l'éluion des Dechloranes sur silices et Florisil® (Feo et al., 2012 ; Brasseur et al., 2014) même si d'autres mélanges plus éluotropes tel que *n*-hexane/dichlorométhane ont également été utilisés (Chen et al., 2014 ; L'Homme et al., 2015 ; Yu et al., 2010, 2015).

Lorsqu'un extrait est suffisamment purifié, il convient de le concentrer dans un faible volume pour réaliser une analyse instrumentale. Les techniques les plus répandues dans la littérature pour séparer, identifier et quantifier les composés volatils et relativement apolaires tels que les Dechloranes, qui plus est sont attendus à des concentrations basses (ng/g à pg/g), sont des couplages de chromatographie en phase gazeuse (GC) à la spectrométrie de masse (MS) simple ou en tandem (MS/MS), à basse ou à haute résolution (Wang et al., 2016 ; Sales et al., 2017).

1.2.4.3. Séparation chromatographique

La chromatographie est une technique physique de séparation qui, couplée à un détecteur, permet de quantifier le produit introduit dans le système analytique. Son principe repose sur l'affinité de la substance entre deux phases dont l'une est dite stationnaire (fixe, placée dans la colonne chromatographique) et l'autre mobile (solvant, gaz). L'analyte est alors caractérisé par le temps de rétention, spécifique de chaque composé.

Selon la littérature, la GC est parfaitement adaptée pour la séparation des Dechloranes en raison de leur apolarité. La séparation des Dechloranes est principalement réalisée au moyen de colonnes capillaires revêtues de phases apolaires ou peu polaires de type DB-5, DB-5MS, DB-5HT, DB-XLB et VF-5MS (J&W), Rtx-5MS ; Rtx-1614 (Restek) et HP-5MS (Hewlett Packard). La colonne la plus fréquemment utilisée est la DB-5MS, avec une phase stationnaire de copolymères faiblement polaires de phenyl (5%) dimethyl arylene polysiloxane (95%). La longueur des colonnes est généralement de 15 ou 30 m, parfois 60 m (Xian et al., 2011). Le diamètre interne et l'épaisseur du film, qui dépendent notamment de la longueur de la colonne, sont généralement de 0,25 mm et de 0,1 ou 0,25 μ m, respectivement. Les températures d'injection sont généralement comprises entre 260 et 290 °C (mode Splitless). Le gradient de

température utilisé est très variable selon les auteurs et peut monter jusqu'à 330 °C (dans un seul cas 350 °C) selon les caractéristiques de la colonne utilisée.

La qualité de la séparation chromatographique dépend largement de la nature du solvant, du mode d'injection et de la température d'injecteur, du gradient de température du four, de la nature et du débit du gaz vecteur.

1.2.4.4. Ionisation et détection

La spectrométrie de masse (MS) est une technique analytique sensible et spécifique permettant de déterminer la masse moléculaire d'un composé chimique. Son principe réside en trois étapes que sont l'ionisation du composé cible et son éventuelle fragmentation, la discrimination des ions formés dans un analyseur de masse et leur détection. Elle peut donner accès à l'identité d'une molécule et à sa quantité même dans des matrices complexes. Un certain nombre de développements, en particulier concernant les analyseurs, rendent la spectrométrie de masse de plus en plus performante pour l'analyse environnementale.

Plusieurs sources d'ionisation peuvent être utilisées dans le cadre d'un couplage GC-MS, les plus importantes étant l'impact électronique (EI) et l'ionisation chimique négative (NCI). L'EI est une technique populaire, robuste et énergétique. Les ions moléculaires $[M]^{+\bullet}$ sont formés dans un état très excité. Ils ont tendance à se fragmenter dans la source et, par conséquent, il est fréquent de ne pas les observer. La NCI est une technique moins énergétique. Les ions pseudo-moléculaires formés sont souvent stables dans la source, ce qui permet d'accéder plus facilement à l'information de la masse moléculaire.

Pour l'EI, les couplages GC-MS/MS à 70 eV d'énergie d'ionisation (Law et al., 2013 ; L'Homme et al., 2015) et GC-HRMS à 35-42 eV (Shen et al., 2010 ; Kim et al., 2016 ; Rjabova et al., 2016) sont les plus utilisés dans la littérature pour l'identification et la quantification des Dechloranes. En MS/MS, la transition suivie pour le DP, Dec-602 et le CP est $271,8 > 236,7$ alors que pour le Dec-603 il s'agit de $262,8 > 227,8$ (avec une énergie de collision égale à 25 eV). En HRMS, l'ion majoritaire suivi pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP, le Dec-601, le Dec-602 et le CP est identique : il s'agit de l'ion hexachlorocyclopentadiène $[C_5Cl_6]^+$ ($m/z=271,8102$). Pour le Dec-603 et le Dec-604, l'ion $[C_7H_2Cl_5]^+$ ($m/z=262,8570$) et l'ion $[C_8H_4Br_4]^+$ ($m/z=419,7006$), respectivement, ont été suivis dans la littérature.

Pour la NCI, les couplage GC-MS et GC-MS/MS utilisant majoritairement le méthane (CH₄) comme gaz réactant sont les plus répandus dans la littérature. L'ion pseudo-moléculaire [M-H]⁻, spécifique pour chaque composé, a été utilisé par la plupart des auteurs (Li et al., 2015 ; Tao et al., 2015). D'après Feo et al. (2012), les ions suivis en GC-NCI-MS pour le DP, le Dec-602 et le Dec-603 sont $m/z=654$, 612 et 638, respectivement. En GC-NCI-MS/MS, les transitions « quantifier » (la plus intense, utilisée pour la quantification) et qualifier (utilisée pour l'identification) utilisent les fragments [Cl]⁻ après collision, à $m/z=35$ et 37. Concernant le Dec-604, l'ion [Br]⁻ est utilisé en MS simple tandis que les transitions 460>79 et 504>79 sont utilisées en MS/MS.

D'après les données disponibles pour les Dechloranes, il apparaît que l'EI favorise la fragmentation de l'ion moléculaire. L'ion suivi est alors identique pour la plupart des composés ce qui limite la sélectivité de la détection. La plupart des auteurs ne recommandent pas l'utilisation de l'EI (Feo et al., 2012). La NCI s'avère plus spécifique que l'EI (moins de fragmentation). La NCI présente un inconvénient sur la détermination de l'ion pseudo-moléculaire qui est très peu intense et parfois non-visible.

Par ailleurs, il convient de noter qu'une étude propose un système de détection basé sur la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem en utilisant l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) (Zhu et al., 2013). Cette stratégie a ainsi permis aux auteurs d'analyser 12 RF halogénés, dont le DP, dans des échantillons de sédiment. Pour le DP, les transitions en mode Selected Reaction Monitoring (SRM) sélectionnées sont 632,6>560,8 et le 634,6>560,8.

1.3. POSITIONNEMENT ET OBJECTIFS DU PROJET

L'utilisation massive des RF dans nos sociétés trouve une justification dans une démarche de gestion des risques liés aux incendies. En effet, afin d'exploiter leurs propriétés ignifugeantes, ces substances chimiques sont synthétisées et incluses dans la formulation d'une très grande diversité de matériaux manufacturés présents dans notre environnement quotidien, domestique et industriel. Cependant, ce progrès certain dans la maîtrise des risques liés au feu a généré en contrepartie l'émergence d'un problème de contamination de l'environnement qui pose aujourd'hui la question d'éventuelles répercussions sur la santé humaine.

En particulier, les Dechloranes diffusent dans l'environnement de façon similaire aux POP, notamment du fait de leurs propriétés lipophiles, s'accumulent dans la matière grasse et

présentent un fort potentiel de bioaccumulation. Ces substances peuvent être transportées sur de très longues distances. Depuis quelques années, des études ont attiré l'attention sur ces produits, qui auraient des propriétés toxiques dans l'environnement, pour les animaux et l'homme.

Chez l'homme, les voies de contamination sont variées et très difficiles à identifier et à attribuer en proportion aux sources d'exposition telles que l'alimentation, l'eau, le sol et l'air. Toutefois, des études ont révélé des teneurs plus élevées dans l'environnement des zones urbaines, considérées comme zones d'émission. L'exposition alimentaire semble non négligeable, notamment en Corée du Sud et au Japon. L'exposition interne est aussi avérée en Chine en relation avec l'activité de recyclage des déchets électroniques (jusque plusieurs centaines de ng/g MG), un niveau basal plus faible étant rencontré pour la population générale et en Europe. Les données de prévalence et d'imprégnations présentées dans ce chapitre confirment ainsi le transfert des Dechloranes à l'homme *via* les différentes voies d'expositions. Dans ce contexte, un besoin de données, notamment de prévalence, apparaît clairement.

Si l'évaluation du risque relatif aux Dechloranes reste incomplète à ce jour, certaines mesures de gestion du risque ont été mises en place au Canada et en Europe. Environment Canada a classé le DP sur la liste des substances chimiques domestiques au Canada (Sverko et al., 2008 ; Kang et al., 2010), le Dec-602 et le Dec-604 sur la liste des substances non domestiques. Suivant les critères de la réglementation de l'Union Européenne sur l'enregistrement, l'évaluation, l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH, Règlement 1907/2006), le DP a récemment été inscrit sur la liste candidate des substances extrêmement préoccupantes (SvHC) par Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA, 2018).

L'ensemble des informations disponibles recueillies au cours de cette recherche bibliographique a apporté les supports nécessaires à l'élaboration des axes de travail de cette thèse. Le travail de doctorat consiste ainsi à contribuer à combler le manque de données sur les niveaux de contamination en Dechloranes dans l'environnement et le long de la chaîne alimentaire, en particulier en France et au Liban où ce type de données fait particulièrement défaut. Plus précisément, dans une problématique générale de santé publique, trois grands axes de recherche ont été définis comme suit :

- ✓ Développer et optimiser une stratégie analytique, la plus adaptée possible, dédiée à l'identification et à la quantification des Dechloranes à l'état de traces dans des matrices biologiques complexes (Chapitre 2 pour la partie instrumentale et Chapitre 3 pour la préparation de l'échantillon).
- ✓ Évaluer les niveaux de prévalence dans un jeu d'échantillons de poissons d'eau douce couvrant le territoire métropolitain de France (Chapitre 4).
- ✓ Évaluer, par un exercice simplifié d'évaluation, l'exposition alimentaire à partir d'échantillonnages de denrées alimentaires d'origine française, libanaise et d'Afrique subsaharienne, afin de contribuer à l'évaluation de l'exposition alimentaire de ces populations (Chapitre 4).

CHAPITRE 2

SÉPARATION ET DETECTION DES DECHLORANES

Le second chapitre est dédié aux investigations menées, dans le cadre de ce travail de doctorat, en matière de séparation et de détection des Dechloranes à l'état d'ultra-trace (de l'ordre du pg/g attendu) dans les matrices. La spectrométrie de masse, en couplage avec la chromatographie, figure aujourd'hui parmi les techniques d'analyse moléculaire les plus utilisées pour l'analyse de substances à l'état de traces dans les matrices biologiques complexes. Notre revue de la littérature (Chapitre 1) montre que l'analyse des Dechloranes est possible par GC-MS, GC-MS/MS ou GC-HRMS (Xian et al., 2011 ; Feo et al., 2012 ; Wang et al., 2016). Suivant les possibilités identifiées, notre vœu initial a consisté à rechercher une alternative plus simple à mettre en œuvre que la mesure par GC-EI-HRMS sur secteur électromagnétique, en investiguant des approches GC-MS/MS suivant trois modes d'ionisation (APCI, NCI et EI).

A ce stade, notre stratégie analytique s'est portée sur une sélection de 8 Dechloranes : *anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603, Dec-604, Dec-604CB et CP (**Figure 6** p58 et **Figure 8** p60) afin de combler le manque de données concernant la prévalence et la distribution de ces composés.

2.1. TECHNIQUES D'IONISATION

L'objectif principal de cette partie vise à sélectionner le mode d'ionisation le plus approprié pour une analyse sensible et spécifique des Dechloranes. Nous avons testé au début les deux modes d'ionisation les plus répandus dans la littérature que sont l'EI et la NCI (Chapitre 1). Nous avons également souhaité investiguer l'ionisation Chimique à Pression Atmosphérique (APCI) pour mettre en évidence des ions plus spécifiques que ceux qui sont publiés en utilisant l'EI ou la NCI. L'équipement GC-MS/MS disponible au LABERCA nous a donné accès à l'ionisation par EI et NCI sur un instrument Bruker Scion (Billerica, MA, USA) et à l'APCI sur un analyseur Waters Xevo TQ-S couplé à un système APGC de première génération (Milford, MA, USA).

Dans un premier temps, nous avons réalisé un balayage complet des ions sur une gamme de rapports masse sur charge (m/z) donnée (Full Scan) et selon les 3 modes d'ionisations investigués. Le mode Full Scan est par exemple utile dans l'identification de composés inconnus (bonne information structurale) ou pour le choix des ions les plus pertinents en vue d'une analyse ultérieure en mode Selected Ion Monitoring (SIM).

2.1.1. IMPACT ÉLECTRONIQUE

L'ionisation par EI est une technique très énergétique. En sortie de colonne capillaire, une molécule cible véhiculée par le gaz vecteur se retrouve dans une source sous vide. La collision avec l'électron d'un faisceau lui arrache un électron, produisant un ion moléculaire $[M]^+$ (**Figure 12**). En EI, l'ion moléculaire est formé dans un état très excité. Il a tendance à se fragmenter dans la source.

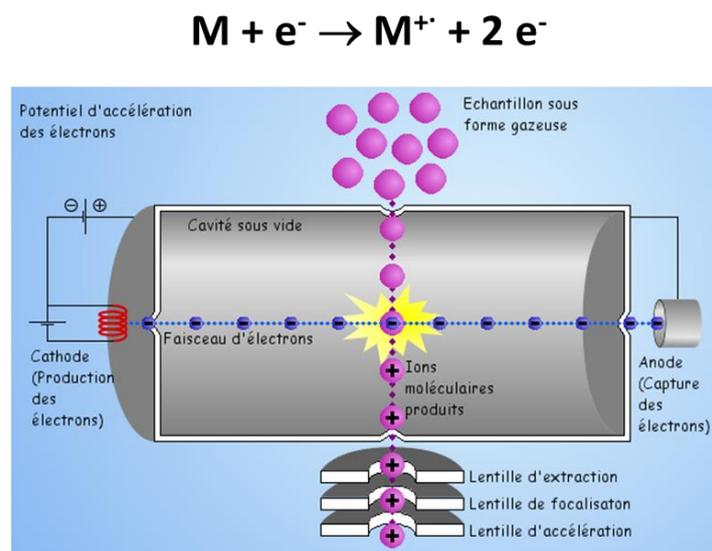


Figure 12 : Représentation schématique du principe de l'ionisation par impact électronique (d'après <https://slideplayer.fr/slide/3278298/>).

Les spectres enregistrés pour les 8 Dechloranes ciblés se sont avérés très similaires (**Figure 13**). Les molécules sont largement fragmentées au cours du processus d'ionisation. L'ion moléculaire $[M]^+$ n'a pas été observé, ou éventuellement à très faible intensité. Le pic de base correspond souvent à l'ion $[C_5Cl_6]^+$ à $m/z=271,8$. Cet ion est le résultat d'une fragmentation de type rétro-Diels-Alder (Sverko et al., 2011) pour la plupart des composés d'intérêts (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602 et CP), ce qui limite la sélectivité de cette ionisation. Les spectres de masse de l'*anti*-DP et du *syn*-DP sont identiques. Pour les autres composés (Dec-603, Dec-604, Dec-604CB), nous avons obtenu respectivement des pics de base à m/z 262,7, 440,5 et 362,6, correspondant aux ions $[C_7H_2Cl_5]^+$, $[C_7H_2Br_4Cl]^+$ et $[C_7H_3Br_3Cl]^+$. Les résultats obtenus sont conformes à ce qui a été rapporté dans la littérature (Chapitre 1). L'ion moléculaire est très faible et dans la plupart des cas absent. Les ions fragments sont peu spécifiques, un ion commun $[C_5Cl_6]^+$ est observé pour les différents composés d'intérêts.

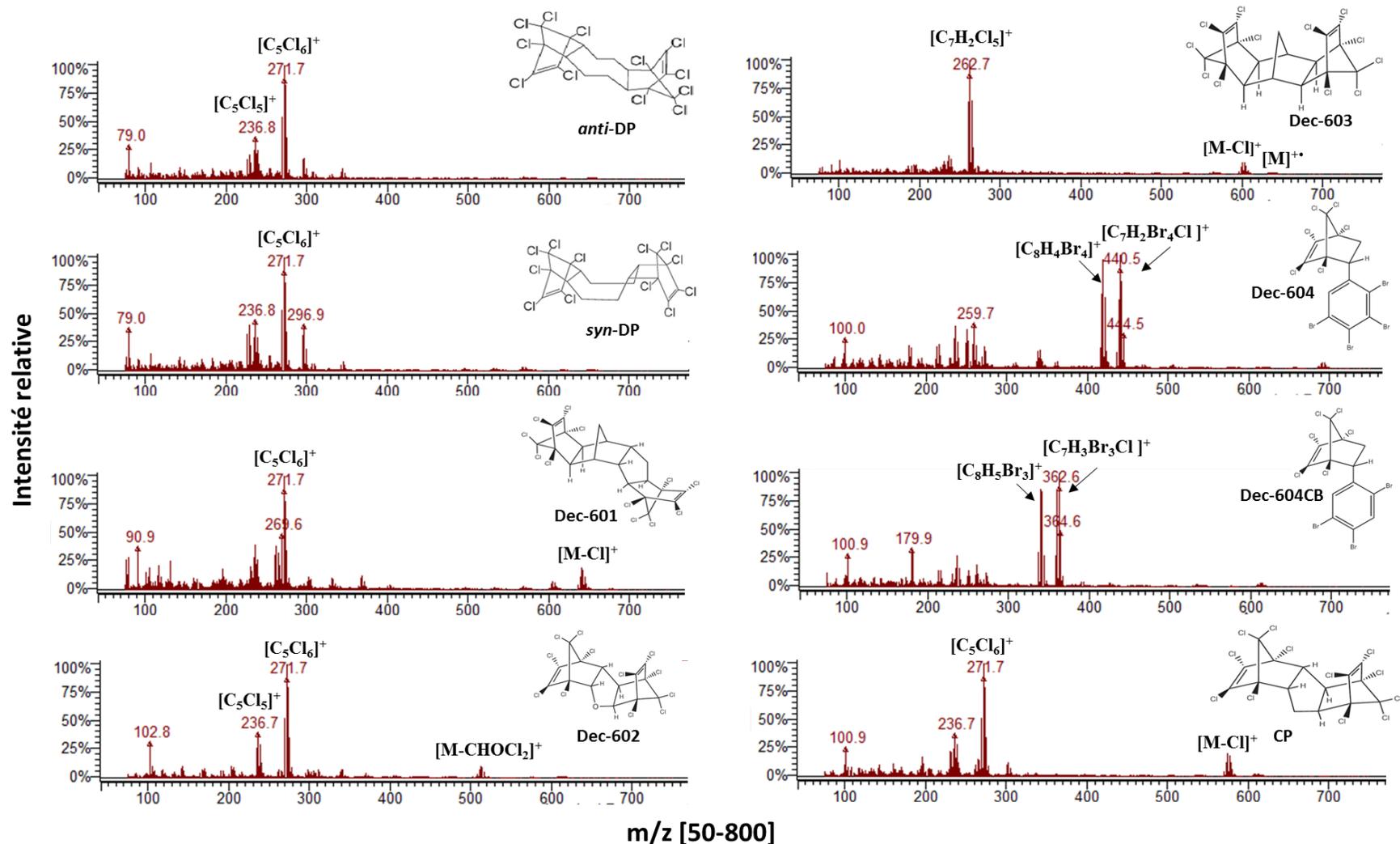
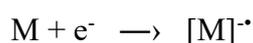


Figure 13 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par EI en mode full scan (Bruker Scion). Température d'injecteur, 250 °C ; Gaz vecteur, hélium ; Température de ligne de transfert, 300 °C ; Température de source, 250 °C.

2.1.2. IONISATION CHIMIQUE EN MODE NÉGATIF

L'ionisation chimique est une technique relativement peu énergétique. Elle permet d'acquérir les signaux en mode positif comme en mode négatif. Dans le cas du mode négatif, deux phénomènes sont possibles :

- Capture d'électrons à résonance : un électron (0-2 eV) est directement capturé par la molécule cible sans fragmentation, produisant un ion moléculaire $[M]^-$.



- Formation de paires d'ions : le bombardement avec un électron (>10 eV) fragmente la molécule et produit une paire d'ions positif et négatif.



Les ions pseudo-moléculaires $[M-H]^-$ formés sont souvent peu intenses et parfois non visibles. La **Figure 14** présente les spectres de masse des 8 composés cibles obtenus par ionisation chimique négative (NCI). De nombreux fragments ont été observés. L'ion pseudo-moléculaire $[M-H]^-$ a été détecté dans la plupart des spectres, avec cependant des intensités moyennes ou relativement faibles. La plupart des fragments sont la conséquence de pertes successives de chlore ou d'HCl. Pour l'*anti*-DP, le pic de base correspond à l'ion $[C_{18}H_{10}Cl_6]^-$ à $m/z=437,9$. Pour le Dec-602, le pic de base correspond à l'ion $[C_5Cl_5]^-$ à $m/z=237,0$. Dans le cas des composés bromés, le pic de base correspond l'ion bromure $[Br]^-$, à $m/z=79$ et 81 , suggérant que l'ion chlorure $[Cl]^-$ ($m/z=35$ et 37) pourrait apparaître comme le pic de base pour les autres composés si la plage d'acquisition en m/z était élargie ($m/z<80$).

D'après les spectres obtenus et conformément à ce qui a été décrit dans la littérature (Chapitre 1), l'ion pseudo moléculaire n'apparaît jamais comme pic de base. Ainsi, même si elle apparaît plus spécifique que l'EI, la NCI est une technique qui présente donc une spécificité et une sensibilité limitées pour les Dechloranes. Nous avons ainsi décidé d'abandonner le développement et l'optimisation de la méthode d'ionisation par NCI pour nous diriger vers l'APCI, une technique qui a récemment progressé pour des couplages avec la GC et qui mérite d'être investiguée, d'une part parce que la pertinence d'analyser de nombreux contaminants de l'environnement par GC-APCI a récemment été démontrée (Bichon, 2016 ; Halloum, 2017), et d'autre part sur la base de la preuve de concept de Zhu et al. (2013) qui ont utilisé l'APCI en couplage avec la chromatographie liquide pour l'analyse de DP dans des sédiments.

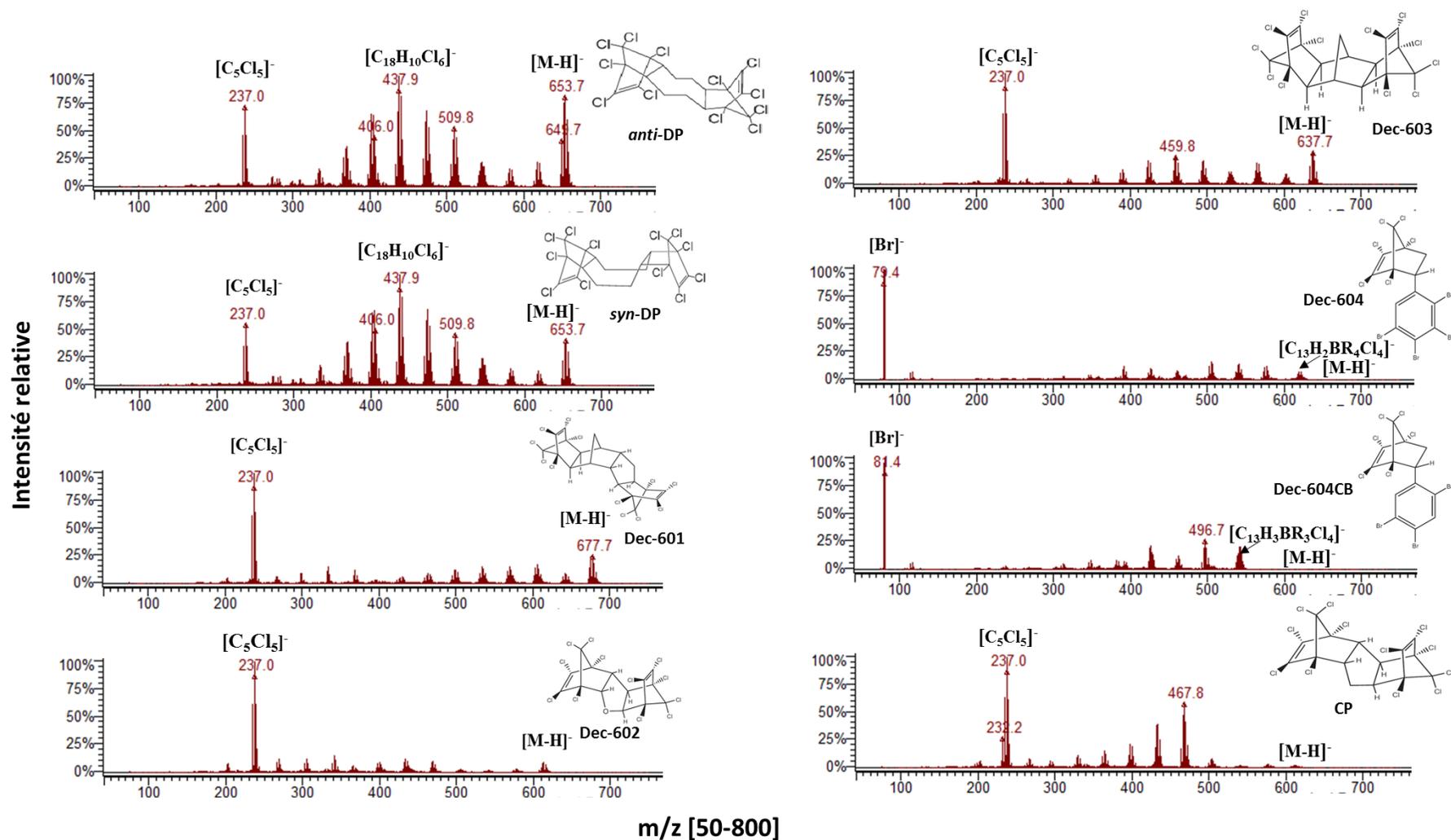


Figure 14 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par NCI en mode full scan (Bruker Scion). Température d'injecteur, 250 °C ; Gaz vecteur, hélium ; Température de ligne de transfert, 300 °C ; Température de source, 250 °C ; Gaz réactant, méthane.

2.1.3. IONISATION CHIMIQUE À PRESSION ATMOSPHERIQUE

L'APCI fait appel à des réactions ion-molécule en phase gazeuse à pression atmosphérique. L'ionisation s'effectue à l'aide d'une décharge corona génératrice d'électrons (2 à 3 μA) dans l'enceinte de la source. La GC-APCI-MS est une technique qui peut supporter un débit d'hélium élevé, accélérant l'élution des analytes et diminuant le risque de dégradation thermique au cours de l'élution. Elle permet également d'acquérir les signaux en mode positif comme en mode négatif. Dans le cas de l'APCI en mode négatif, le phénomène de déprotonation est le plus observé. Il y a alors formation d'un ion $[\text{M}-\text{H}]^-$ ou d'un adduit (par exemple $[\text{M}+\text{Cl}]^-$).

Dans le cas de l'APCI en mode positif, l'ionisation est initiée soit par un transfert de charge (conditions aprotiques dites « sèches ») soit par un transfert de proton (conditions protiques) (**Figure 15**). De façon plus détaillée, la décharge corona émet des électrons qui ionisent les molécules d'azote en $[\text{N}_2]^{+\bullet}$ et $[\text{N}_n]^{+\bullet}$. Dans des conditions sèches, la charge est ensuite transférée du gaz ionisé vers l'analyte cible pour former un ion moléculaire radicalaire $[\text{M}]^{+\bullet}$. Dans des conditions protiques, un modifiant placé dans la source, typiquement H_2O , peut subir une protonation par transfert de charge et obtention d'un ion $[\text{modifiant}+\text{H}]^+$. Un transfert de proton du modifiant vers l'analyte est ensuite observé, formant un ion pseudo-moléculaire $[\text{M}+\text{H}]^+$.

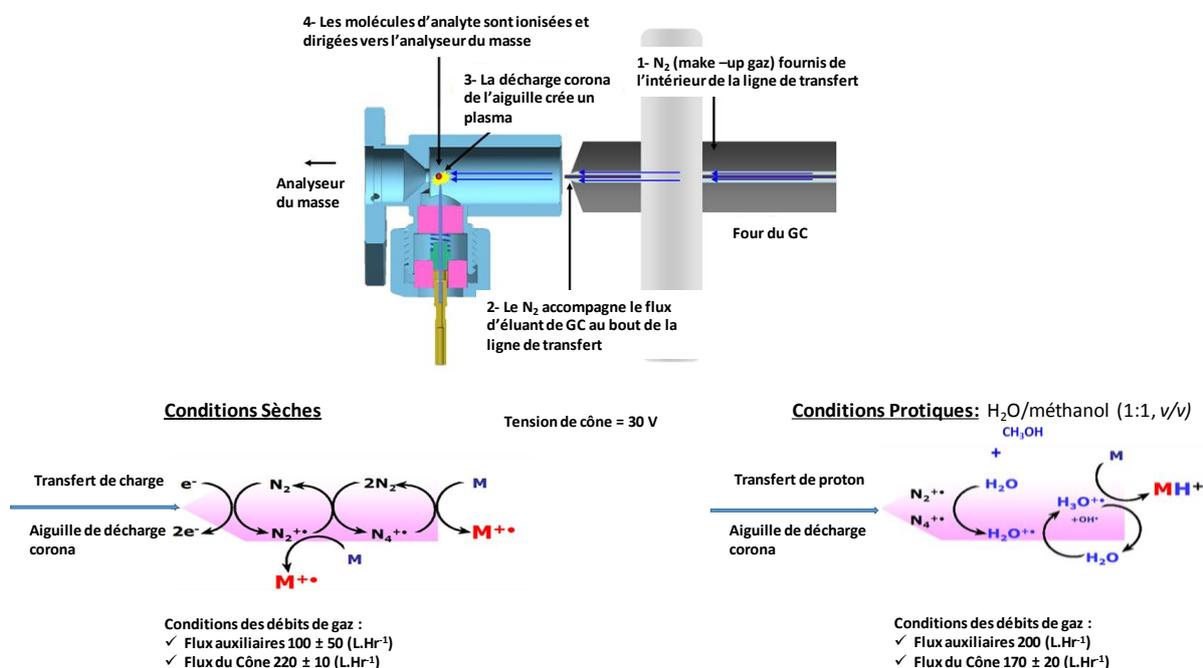


Figure 15 : Représentation schématique du principe de l'ionisation chimique à pression atmosphérique (d'après Waters), avec les condition utilisées.

Nous avons investigué l'APCI comme mode d'ionisation au début de la thèse afin de produire des données originales et non encore disponibles dans la littérature. Dans les conditions protiques, un mélange MeOH/H₂O (1:1, v/v) a été introduit dans la source comme modifiant donneur de proton. Néanmoins, dans le mode positif, les spectres de masse des Dechloranes enregistrés en conditions sèches et en conditions protiques se sont avérés très similaires entre eux (à l'exception du Dec-602) avec un profil d'intensité légèrement différent (**Figure 16** et **Figure 17**). L'ion moléculaire [M]⁺⁺ a été observé pour tous les composés, souvent comme pic de base. Nous avons observé de nombreux pics correspondant à des ions fragments résultant de la perte d'un radical ou d'un groupement neutre lors du mécanisme d'ionisation.

Le Dec-602 a révélé un comportement singulier. En effet, un pic remarquable et intense a été observé en conditions protiques à $m/z=646,4$ correspondant à un adduit méthanol [M+MeOH]⁺. En conditions sèches, le spectre du Dec-602 obtenu est similaire à celui obtenu en conditions protiques, avec cependant l'absence de l'adduit méthanol. Dans les deux conditions, les ions moléculaire [M]⁺⁺ et pseudo-moléculaire [M+H]⁺ coexistent, témoignant d'un phénomène de compétition entre les deux modes d'ionisation. Le Dec-602 est le seul Dechlorane à posséder un atome d'oxygène, qui est vraisemblablement le site de protonation. En comparant avec les profils théoriques, nous avons estimé que le massif observé était dans les deux cas constitué d'une combinaison des ions [M]⁺⁺ et [M+H]⁺ dans une proportion d'environ 45:55. L'absence de donneur de proton dans la source apparaît donc non contrôlée (azote, fuite, ...). Globalement, n'ayant pas observé de différence significative entre les conditions sèches et protiques, nous avons retenu l'APCI(+) en conditions sèches pour simplifier le système. Le **Tableau 6** reprend les ions les plus intenses observés suivant ionisation par EI, NCI et APCI. En mode APCI, nous avons observé l'ion moléculaire et des ions spécifiques pour chaque composé alors qu'en EI et en NCI, l'ion moléculaire n'a pas été toujours détecté, avec moins de spécificité pour les autres ions observés.

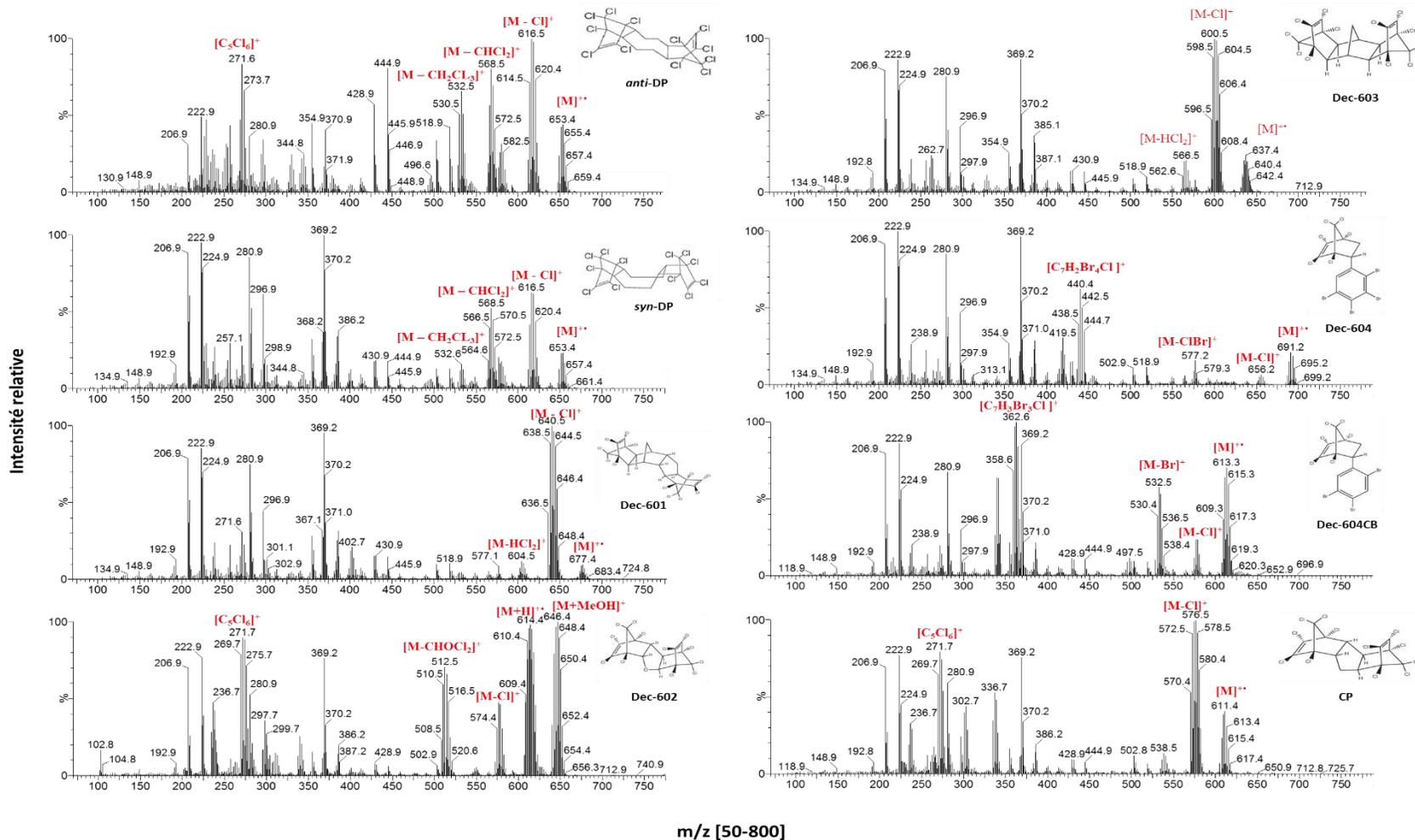


Figure 16 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par APCI(+) en mode full scan (Waters Xevo) en conditions protiques. Température de source, 150 °C ; Flux auxiliaire, 200 L.h⁻¹ en conditions protiques ; Flux du cône, 170 L.h⁻¹ en conditions protiques ; Tension de cône, 30 V ; Modifiant protique, MeOH/eau 1:1 (v/v).

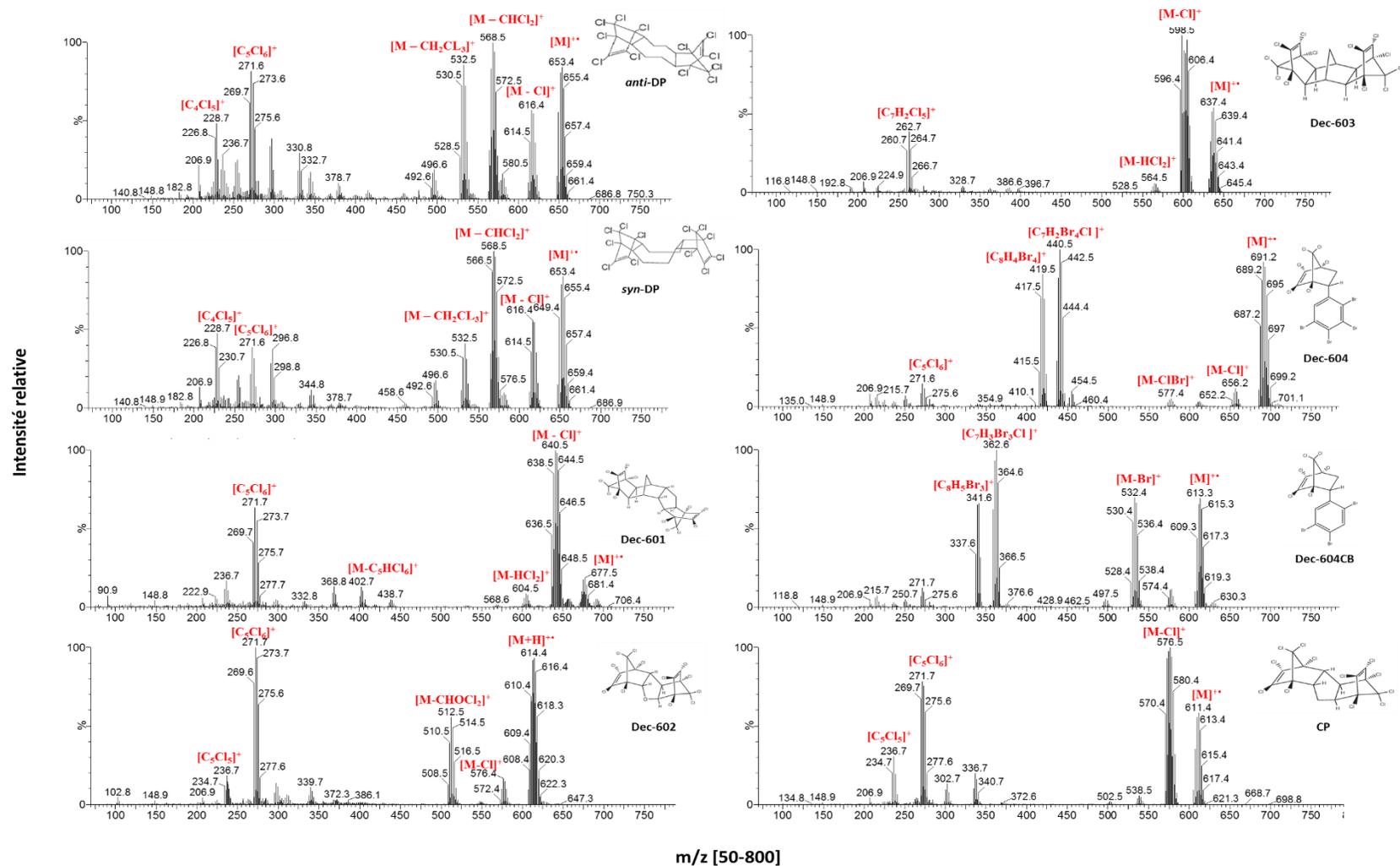


Figure 17 : Spectres de masse des Dechloranes obtenus par APCI(+) en mode full scan (Waters Xevo) en conditions sèches. Température de source, 150 °C ; Flux auxiliaire, 100 L.h⁻¹ en conditions sèches ; Flux du cône, 220 L.h⁻¹ en conditions sèches ; Tension de cône, 30 V.

Tableau 6 : Ions majoritaires observés pour les Dechloranes par EI, NCI et APCI(+) en mode full scan.

Composé	EI	NCI	APCI(+)
<i>anti</i> -DP	[C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺	[M-H] ⁻ ; [M-HCl] ⁻ ; [C ₁₈ H ₁₀ Cl ₆] ⁻ ; [C ₅ Cl ₅] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [M-CHCl ₂] ⁺ ; [M-CH ₂ Cl ₃] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₄ Cl ₅] ⁺
<i>syn</i> -DP	[C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺	[M-H] ⁻ ; [M-HCl] ⁻ ; [C ₁₈ H ₁₀ Cl ₆] ⁻ ; [C ₅ Cl ₅] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [M-CHCl ₂] ⁺ ; [M-CH ₂ Cl ₃] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₄ Cl ₅] ⁺
Dec-601	[M-Cl] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺	[M-H] ⁻ ; [C ₅ Cl ₅] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [M-HCl ₂] ⁺ ; [M-C ₅ HCl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺
Dec-602	[M-CHOCl ₂] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺	[M-H] ⁻ ; [C ₅ Cl ₅] ⁻	[M+MeOH] ⁺ ; [M] ^{+•} ; [M+H] ⁺ ; [M-Cl] ⁺ ; [M-CHOCl ₂] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺
Dec-603	[M-Cl] ⁺ ; [C ₇ H ₂ Cl ₅] ⁺	[M-H] ⁻ ; [M-H ₂ Cl ₂] ⁻ ; [C ₅ Cl ₅] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [M-HCl ₂] ⁺ ; [C ₇ H ₂ Cl ₅] ⁺
Dec-604	[C ₇ H ₂ Br ₄ Cl] ⁺ ; [C ₈ H ₄ Br ₄] ⁺	[Br] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [M-Br] ⁺ ; [M- ClBr] ⁺ ; [C ₇ H ₂ Br ₄ Cl] ⁺ ; [C ₈ H ₄ Br ₄] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺
Dec-604CB	[C ₇ H ₃ Br ₃ Cl] ⁺ ; [C ₈ H ₅ Br ₃] ⁺	[Br] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [M-Br] ⁺ ; [M- ClBr] ⁺ ; [C ₇ H ₃ Br ₃ Cl] ⁺ ; [C ₈ H ₅ Br ₃] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺
CP	[M-Cl] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺	[C ₅ Cl ₅] ⁻	[M] ^{+•} ; [M-Cl] ⁺ ; [C ₅ Cl ₆] ⁺ ; [C ₅ Cl ₅] ⁺

Après l'interprétation des spectres de masse (full scan) obtenus par les différents modes d'ionisations, nous avons dirigé notre travail vers le développement de méthodes ciblées dans le mode Selected Reaction Monitoring (SRM) par EI et APCI. Nous avons ainsi souhaité conserver deux options et réaliser une comparaison entre les résultats de quantification ainsi que les robustesses de chaque approche.

2.2. MÉTHODE D'ACQUISITION

2.2.1. MÉTHODES MS/MS EN BASSE RÉOLUTION

Le mode d'acquisition SRM est considéré adapté pour l'analyse de composés connus présents à l'état de trace au sein de matrices biologiques complexes, car il offre à la fois une bonne sélectivité (si les ions fragment choisis sont spécifiques des composés recherchés) et une sensibilité maximale. Après la sélection de l'ion le plus approprié (ion précurseur) par EI et par APCI, nous avons investigué les ions produits résultant de la fragmentation de ce dernier (mode Daughter Scan). Pour chaque transition nous avons optimisé l'énergie de collision entre 5 et

45 eV, suivant un pas de 5 eV, afin de retenir les deux transitions présentant le meilleur compromis entre sensibilité, sélectivité et spécificité.

Les conditions spectrométriques optimisées et les transitions retenues dans le cadre de notre étude en EI sont présentées dans le **Tableau 7**. Pour chaque composé, les deux transitions appartiennent au même massif isotopique. Conformément aux informations disponibles dans la littérature, la transition $[C_5Cl_6]^+ \rightarrow [C_5Cl_5]^+$ s'est révélée être la plus pertinente pour la majorité des composés d'intérêts, ce qui limite la spécificité de cette transition diagnostique. L'énergie de collision optimisée pour cette transition est de 15 eV, alors que L'Homme et al. (2015) ont utilisé une énergie de collision de 25 eV. Il semble probable que cette différence de paramétrage soit imputable à l'origine des instruments mis en œuvre (Bruker Scion vs Agilent) et/ou leur optimisation.

Tableau 7 : Paramètres d'acquisition retenus pour l'identification des Dechloranes par GC-EI(+)-MS/MS. Température d'injecteur, 250 °C ; Température de source, 250 °C ; Température de ligne de transfert, 300 °C ; Énergie d'ionisation, 70 eV ; Gaz vecteur, hélium.

Composé	Transitions diagnostiques (¹² C)	Transitions diagnostiques (¹³ C)	Ions	Énergie de collision (eV)
anti-DP syn-DP Dec-601 Dec-602 CP	271,8>236,8 273,8>238,8	276,8>241,8 278,8>243,8	$[C_5Cl_6]^+ \rightarrow [C_5Cl_5]^+$	15
Dec-603	262,8>227,9 264,8>229,9	- -	$[C_7H_2Cl_5]^+ \rightarrow [C_7H_2Cl_4]^+$	20
Dec-604	440,7>280,8 438,6>280,8	- -	$[C_7H_2Br_4Cl]^+ \rightarrow [C_7H_2Br_2Cl]^+$	40
Dec-604CB	362,7>202,9 360,7>200,9	- -	$[C_7H_3Br_3Cl]^+ \rightarrow [C_7H_3BrCl]^+$	35
¹³ C ₁₂ -PCB-194	- -	441,8>371,8 439,8>369,8	$[^{13}C_{12}H_2Cl_8]^+ \rightarrow [C_{12}H_2Cl_6]^+$	25

Le **Tableau 8** reprend la méthode d'acquisition SRM retenue pour les Dechloranes concernant le mode APCI(+). Pour chaque composé, l'ion moléculaire $[M]^+$ a été retenu au moins une fois comme ion précurseur. La spécificité de cette méthode SRM par APCI(+) apparaît ainsi meilleure que celle de la méthode SRM par EI.

Tableau 8 : Paramètres d'acquisition retenus pour l'identification des Dechloranes par GC-APCI(+)-MS/MS en conditions sèches. Température d'injecteur, 280 °C ; Température de source, 150 °C ; Température de ligne de transfert, 350 °C ; Aiguille de corona, 2 µA ; Tension de cône, 30 V ; Gaz vecteur, hélium.

Composé	Transitions diagnostiques (¹² C)	Transitions diagnostiques (¹³ C)	Ions	Énergie de collision (eV)
anti-DP	653,7>228,8	663,7>232,8	[M] ⁺⁺ >[C ₄ Cl ₅] ⁺	25
syn-DP	568,8>228,8	577,8>232,8	[M-CHCl ₂] ⁺ >[C ₄ Cl ₅] ⁺	25
Dec-601	677,7>642,7	-	[M] ⁺⁺ >[M - Cl] ⁺	10
	642,7>332,9	-	[M - Cl] ⁺ >[C ₉ H ₁₁ Cl ₆] ⁺	20
Dec-602	613,6>514,7	623,6>524,7	[M] ⁺⁺ >[M - CHCl ₂ O] ⁺	15
	613,6>271,8	623,6>276,8	[M] ⁺⁺ >[C ₅ Cl ₆] ⁺	10
Dec-603	637,7>602,7	-	[M] ⁺⁺ >[M - Cl] ⁺	10
	602,7>262,9	-	[M] ⁺⁺ >[C ₇ H ₂ Cl ₅] ⁺	25
Dec-604	691,5>440,7	-	[M] ⁺⁺ >[C ₇ H ₂ Br ₄ Cl] ⁺	15
	419,7>259,8	-	[C ₈ H ₄ Br ₄] ⁺ >[C ₈ H ₄ Br ₂] ⁺	25
Dec-604CB	613,6>362,7	-	[M] ⁺⁺ >[C ₇ H ₃ Br ₃ Cl] ⁺	20
	362,7>202,9	-	[C ₇ H ₃ Br ₃ Cl] ⁺ >[C ₇ H ₃ BrCl] ⁺	35
CP	611,7>576,7	-	[M] ⁺⁺ >[M - Cl] ⁺	10
	611,7>271,8	-	[M] ⁺⁺ >[C ₅ Cl ₆] ⁺	10
¹³ C ₁₂ -PCB-194	-	441,8>406,8	[M] ⁺⁺ >[M - Cl] ⁺	30

Dans un souci d'anticipation de l'applicabilité des protocoles SRM développés à la caractérisation de matrices complexes, des essais préliminaires sur matrice ont été à ce stade mis en œuvre. Les divers essais ont ainsi permis d'observer des phénomènes de suppression d'ion pénalisants ainsi qu'une instabilité instrumentale (dégradation rapide des performances), conduisant à écarter l'APCI. En ce sens, il est important de souligner que l'instrument APGC, de première génération lors de ces essais, ne permettait pas d'assurer une maîtrise optimale des conditions de la ligne de transfert (température) et de la source (humidité). D'autre part, le degré de purification des extraits de matrice injectés en GC-APCI-MS/MS était, avec le recul, insuffisant au regard de la sensibilité de cette méthode au phénomène de compétition pour l'ionisation.

Ainsi, au prix d'une concession sur la sélectivité, nous avons retenu l'EI pour la suite du travail de thèse. Selon les données disponibles dans la littérature, l'EI est parmi les modes d'ionisation

les plus utilisés pour l'analyse des Dechloranes, majoritairement en haute résolution et parfois en basse résolution. Nous avons d'abord souhaité poursuivre en mode SRM en basse résolution mais avons rapidement fait face à certains écueils dus au nombre insuffisant de ^{13}C dans les étalons internes au regard du nombre de Cl, tel que détaillé ci-après.

2.2.2. ECUEILS À BASSE RÉOLUTION

Suite à la sélection de la méthode EI-MS/MS, nous avons observé une contribution significative des étalons internes ($^{13}\text{C}_{10}$ -*anti*-DP, $^{13}\text{C}_{10}$ -*syn*-DP et $^{13}\text{C}_{10}$ -Dec-602) sur les transitions des composés natifs, tel qu'illustré sur la **Figure 18**, ce qui limite les performances de la méthode, essentiellement à basse concentration. Cette figure représente les massifs isotopiques théoriques de l'ion précurseur $[\text{C}_5\text{Cl}_6]^+$ retenu pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-602. Des interférences réciproques entre composés natifs et marqués apparaissent ainsi possibles à basse résolution.

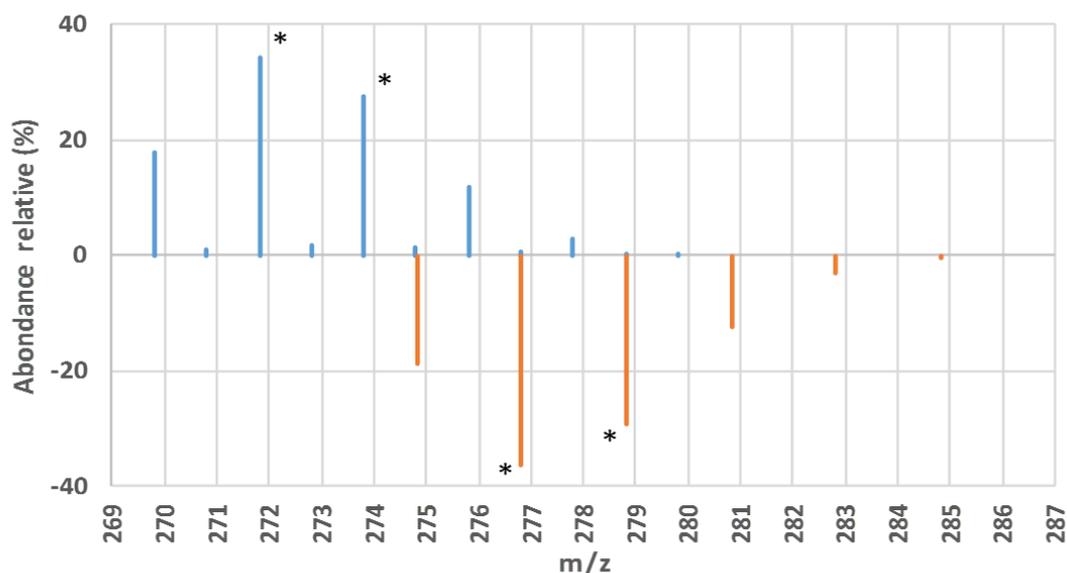


Figure 18 : Massifs isotopiques théoriques de l'ion précurseur $[\text{C}_5\text{Cl}_6]^+$ du DP natif (bleu) et marqué $^{13}\text{C}_{10}$ (orange, échelle inversée). * : isotopologues sélectionnés.

2.2.2.1. Impact des composés marqués sur les composés natifs à basse concentration

Il apparaît que l'ion précurseur marqué $[\text{C}_5^{13}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_6]^+$, de $m/z=274,8$, peut légèrement contribuer au signal de l'ion natif $[\text{C}_5^{12}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_6]^+$ sélectionné à $m/z=273,8$, à la fois (i) en raison de la pureté isotopique en ^{13}C (>99%, soit un cumul <5% de $[\text{C}_5^{12}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_6]^+$ en raison de la présence de 5 atomes de carbone), et (ii) de la résolution unitaire du quadripôle à $\pm 0,7$ uma. La perte

d'un atome de Cl au cours de la collision induite à partir de ces 3 ions indique que la contribution de l'impureté isotopique sur l'ion $m/z=238,8$ est $<5\%$ (**Figure 19**). Ceci explique l'augmentation du rapport d'ions observé entre les deux transitions natives à faible concentration en présence de l'étalon interne. La contribution de la transition $[^{13}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_6]^+ \rightarrow [^{13}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_5]^+$ ($274,8 > 239,9$), bien que difficile à évaluer, apparaît faible au regard du décalage cumulé d'1 uma sur chaque quadripôle. Si la transition « quantifier » retenue $[^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_5^{37}\text{Cl}_1]^+ \rightarrow [^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_1]^+$ ($271,8 > 236,8$) avec une intensité relative de 29% n'est pas impactée par l'impureté isotopique, une alternative pertinente à la transition « qualifier » $[^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2]^+ \rightarrow [^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_4]^+$ ($273,8 > 238,8$) avec une intensité relative de 18% pourrait être la transition $[^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_6]^+ \rightarrow [^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_5]^+$ ($269,8 > 234,8$) avec une intensité relative également de 18%.

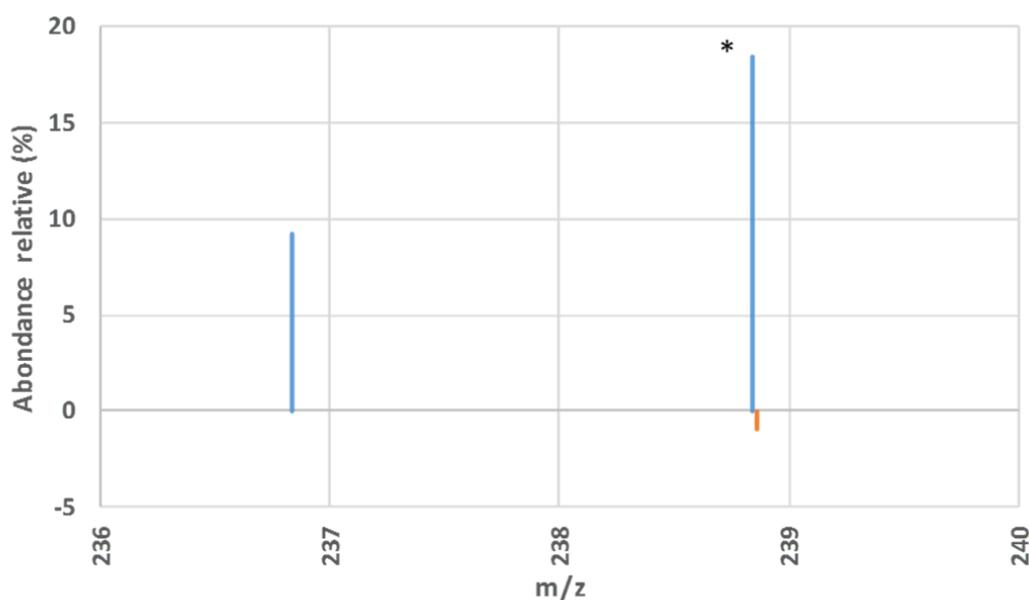


Figure 19 : Massif isotopiques théoriques de la transition $[^{12}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2]^+ \rightarrow [^{12}\text{C}_5\text{Cl}_5]^+$ retenue par EI(+) pour les Dechloranes natifs (bleu) et de la transition $[^{12}\text{C}_1^{13}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_6]^+ \rightarrow [^{12}\text{C}_1^{13}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_5]^+$ de l'impureté isotopique des isotopologues marqués (orange, échelle inversée), à nombre d'atomes de départ équivalents. * : isotopologue sélectionné.

2.2.2.2. Impact des composés natifs à forte concentration sur les composés marqués

Il apparaît que les ions précurseurs natifs $[^{13}\text{C}_1^{12}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_3]^+$ et $[^{13}\text{C}_1^{12}\text{C}_4^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}_4]^+$ à $m/z=276,8$ et $278,8$, respectivement, interfèrent à 1,8% et 0,5% aux signaux des ions

précurseurs marqués sélectionnés. En termes de transitions, avec la perte d'un ^{35}Cl , la contribution de ces transitions est de 0,32% et 0,05%, respectivement. La linéarité à forte concentration est donc affectée. Une augmentation de la concentration en étalons internes pour compenser cette perte de sensibilité aurait un impact négatif sur le premier point évoqué. La sélection alternative des transitions $^{13}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_4^{37}\text{Cl}_2]^+ > [^{13}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_2]^+$ et $^{13}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_3^{37}\text{Cl}_3]^+ > [^{13}\text{C}_5^{35}\text{Cl}_2^{37}\text{Cl}_3]^+$ comme « quantifier » et « qualifier », respectivement, devrait réduire par un facteur 6 l'impact à forte concentration en natifs tout en limitant la perte de sensibilité.

Du point de vue expérimental, nous avons estimé le pourcentage d'interférence des composés natifs sur les signaux des composés marqués, et *vice versa*. Un mélange de composés natifs (*anti*-DP, *syn*-DP et Dec-602 à 10 ng chacun) et un mélange de composés marqués (^{13}C -*anti*-DP, ^{13}C -*syn*-DP et ^{13}C -Dec-602 à 10 ng chacun) ont été injectés séparément (Bruker Scion). Le **Tableau 9** reprend les pourcentages d'interférences sur la base des aires des pics obtenus.

Tableau 9 : Rapports des signaux des transitions diagnostiques observées par GC-EI-MS/MS à basse résolution pour l'injection distincte de mélanges de composés natifs et marqués.

Mélange de composés		<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	Dec-602	^{13}C - <i>anti</i> -DP	^{13}C - <i>syn</i> -DP	^{13}C -Dec-602
Natifs	Quantifier (276,8>241,8)	100%	100%	100%	1,5%	1,7%	1,8%
	Qualifier (278,8>243,8)	62%	61%	60%	0,6%	0,7%	0,4%
Marqués	Quantifier (276,8>241,8)	1,5%	2,0%	0,4%	100%	100%	100%
	Qualifier (278,8>243,8)	4,1%	4,0%	3,8%	64%	64%	65%

La contribution des composés natifs sur les transitions des composés marqués apparaît environ 5-10 fois plus élevée qu'attendu au regard des considérations théoriques (environ 1,6% et 0,5% contre 0,32% et 0,05%, pour le quantifier et le qualifier, respectivement). Ces interférences peuvent provenir d'impuretés chimiques co-éluées et/ou des performances résolutive des quadripoles. Il en est de même pour la contribution des composés marqués sur les transitions de composés natifs, qui apparaît relativement élevée au regard des considérations théoriques.

Face à ce constat, nous avons envisagé de transposer la méthode GC-EI-MS/MS en une méthode GC-EI-HRMS, impliquant de revenir à une seule dimension spectrométrique mais permettant de bénéficier de la haute résolution.

2.2.3. HAUTE RÉOLUTION

Sur secteur électromagnétique (géométrie BE) en MS monodimensionnelle, les interférences théoriques relatives sont identiques à celles précédemment décrites pour les ions précurseurs en basse résolution, soit 3,4% et 1,8% à $m/z=273,8$ (impureté isotopique marqué sur natif) et 276,8 (natif sur marqué), respectivement. La résolution nécessaire pour séparer ces paires interférentes à 10% de vallée est de 14185 et 14335, respectivement, considérant les pics adjacents à même hauteur. A la résolution cible de 10 000, une légère interférence est donc attendue pour l'ion $[C_5Cl_6]^+$ suivi.

Afin d'étudier si la haute résolution peut réduire l'interférence entre composés, le même protocole qu'en basse résolution a été appliqué avec la méthode développée par GC-EI-HRMS sur un instrument JEOL 700D à une résolution proche de 10 000. A noter que le Règlement Européen 589/2014 dédié aux critères d'analyse officielle des teneurs en dioxines et en PCB dans certaines denrées alimentaires impose une résolution minimale supérieure ou égale à 10 000 à 10% de vallée en GC-HRMS et une résolution unitaire en GC-MS/MS, c'est-à-dire une « *résolution suffisante pour séparer deux pics d'une unité massique* ». En absence de lignes directrices pour les Dechloranes, nous nous sommes rapprochés de ces exigences. Le **Tableau 10** reprend les pourcentages d'interférences sur la base des aires des pics obtenus. Il apparaît clairement que les interférences croisées sont relativement limitées.

Tableau 10 : Pourcentages de contribution des signaux des composés natifs sur ceux des composés marqués et *vice versa* observés par GC-EI-HRMS (R=10 000).

Mélange de composés		<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	Dec-602	¹³ C- <i>anti</i> -DP	¹³ C- <i>syn</i> -DP	¹³ C-Dec-602
Natifs	Quantifier (271,8096)	100%	100%	100%	-	-	0,07%
	Qualifier (273,8066)	80%	82%	77%	-	-	0,02%
Marqués	Quantifier (276,8263)	0,19%	0,12%	0,03%	100%	100%	100%
	Qualifier (278,8234)	0,10%	0,04%	0,04%	81%	77%	78%

Au regard des résultats obtenus, il apparaît que le recours à la HRMS permet de réduire drastiquement la contribution des composés natifs sur les signaux des composés marqués et *vice versa*. La HRMS apparaît ainsi plus performante que la MS/MS dans le cadre d'une quantification par dilution isotopique, telle qu'envisagée dans le cadre de ce travail.

Considérant d'une part que la quantification est envisagée par la méthode dite de dilution isotopique et d'autre part que la méthode instrumentale retenue présente quelques faibles interférences croisées entre composés natifs et étalons internes, il s'est par la suite avéré nécessaire de caractériser la linéarité de la réponse au sein de la gamme dynamique envisagée.

2.2.4. QUANTIFICATION PAR DILUTION ISOTOPIQUE

La méthode dite de « dilution isotopique » fait intervenir une droite d'étalonnage, généralement en cinq points minimum (Cal-1 jusqu'à Cal-5), réalisée dans notre cas à partir de solutions de standards. Les concentrations des étalons internes marqués ($^{13}\text{C}_{10}$ -*anti*-DP, $^{13}\text{C}_{10}$ -*syn*-DP et $^{13}\text{C}_{10}$ -Dec-602, 200 pg/ μL) et de l'étalon externe ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-194, 40 pg/ μL) y sont constantes, tandis que celles des analytes vont croissantes, le premier et le dernier point définissant le domaine d'étalonnage (**Tableau 11**).

Tableau 11 : Description des solutions d'étalonnage.

Cal	Préparation	
Cal-1	10 μL d'un mélange de 8 natifs (10 pg/ μL)	40 μL d'un mélange 100 pg/ μL de ^{13}C - <i>anti</i> -DP, - <i>syn</i> -DP et -Dec-602 + 40 μL d'un mélange 20 pg/ μL de ^{13}C -PCB-194
Cal-2	40 μL d'un mélange de 8 natifs (10 pg/ μL)	
Cal-3	100 μL d'un mélange de 8 natifs (10 pg/ μL)	
Cal-4	40 μL d'un mélange de 8 natifs (100 pg/ μL)	
Cal-5	100 μL d'un mélange de 8 natifs (100 pg/ μL)	

A partir des aires de signaux, le facteur de réponse relatif (RRF_i) entre un analyte « i » ($[\text{Ana}]_i$) et son étalon interne ($[\text{EI}]_i$) est déterminé. Comme seuls les composés marqués de l'*anti*-DP, du *syn*-DP et du Dec-602 sont commercialement disponibles, le choix de l'étalon interne pour le Dec-601, le Dec-603, le Dec-604, le Dec-604CB et le CP s'est naturellement orienté vers le composé le plus proche en termes de temps de rétention. Afin de donner une pondération équivalente à chaque point d'étalonnage, le RRF_i n'est pas défini comme correspondant à la pente de la courbe représentant le rapport d'aires en fonction du rapport de concentrations de

l'analyte sur son étalon interne, mais comme la moyenne des facteurs de réponse relatif de chaque point d'étalonnage « j » (RRF_{ij}), selon l'Équation 1.

$$RRF_{ij} = \frac{C_j [EI]_i}{C_j [Ana]_i} \times \frac{A_j [Ana]_i}{A_j [EI]_i}$$

Équation 1 : Calcul du facteur de réponse relatif du point d'étalonnage « j » pour le composé « i ». C, concentration ; A, aire du signal.

Lors de l'analyse d'un échantillon, le taux de récupération de chaque étalon interne (Équation 2) ainsi que la quantité d'analyte présente dans l'échantillon au moment de l'introduction de l'étalon interne (Équation 3) peuvent être calculés.

$$R[EI]_i = \frac{Q[EE]}{Q[EI]_i} \times \frac{A[EI]_i}{A[EE]} \times \frac{1}{RRF[EI]_i}$$

Équation 2 : Calcul du taux de récupération de l'étalon interne « i ». $R[EI]_i$, taux de récupération de l'étalon interne cible « i » ; $Q[EE]$, quantité massique d'étalon externe introduite ; $Q[EI]_i$, quantité massique d'étalon interne « i » introduite ; A, aire du signal; $RRF[EI]_i$, facteur de réponse relatif moyen de l'étalon interne cible « i » calculé par rapport à l'étalon externe.

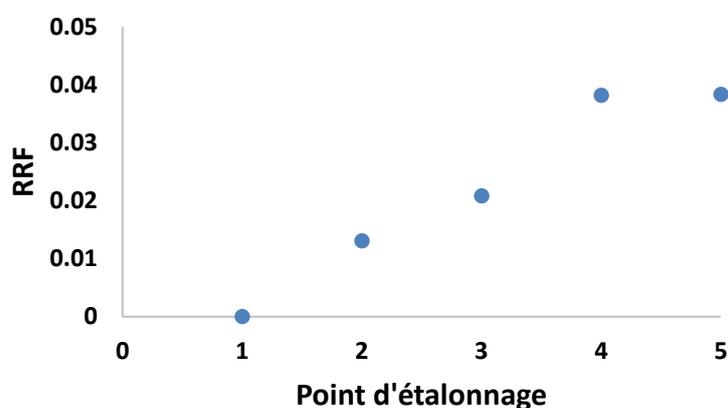
$$C[Ana]_i = \frac{Q[EI]_i}{P.E.} \times \frac{A[Ana]_i}{A[EI]_i} \times \frac{1}{RRF_i}$$

Équation 3 : Calcul de quantification d'un analyte « i » dans la prise d'essai. $C[Ana]_i$, concentration de l'analyte cible « i » dans la prise d'essai ; $Q[EI]_i$, quantité massique d'étalon interne « i » introduite ; P.E., masse de prise d'essai ; A, aire du signal; RRF_i , facteur de réponse relatif moyen de l'analyte cible « i ».

Les RRF obtenus pour les Dechloranes apparaissent satisfaisants, conformes avec une tolérance de coefficient de variation (CV) inférieure à 20%, à l'exception du Dec-604 (CV de 46%) (Tableau 12).

Tableau 12 : Facteurs de réponse relatifs moyens obtenus pour les Dechloranes par GC-EI-HRMS.

Composé	RRF	CV
anti-DP	1,209	9,9%
syn-DP	1,157	5,7%
Dec-601	0,872	7,1%
Dec-602	0,979	6,7%
Dec-603	0,528	6,8%
Dec-604	0,028	46,0%
Dec-604CB	0,637	14,0%
CP	0,551	9,1%

**Figure 20 :** Facteurs de réponse relatifs obtenus pour chaque point de gamme d'étalonnage du Dec-604 par GC-EI-HRMS.

D'après la **Figure 20**, le RRF du Dec-604 apparaît instable dans la gamme dynamique choisie. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer ce résultat, incluant un manque de sensibilité (seuil de réponse par EI-MS) et une inadéquation de la méthode GC optimisée (colonne HT8-PCB, thermodégradation). Au regard de ces résultats, nous avons décidé d'écarter le Dec-604 et le Dec-604CB (impureté du Dec-604) de la suite de travaux. Soulignons que selon les quelques données disponibles dans la littérature (Chapitre 1), ces deux composés n'ont pas été détecté (niveaux inférieurs aux limites de détection et/ou de quantification, faible réponse) dans la plupart des échantillons analysés (le Dec-604 a été recherché plus que le Dec-604CB). Une récente étude qui a rapporté un niveau relativement élevé en Dec-604 (moyenne de 121 ng/g MG avec une LOQ=0,274) dans des échantillons marins collectés en

Chine en 2010 fait exception (Wang et al., 2015). Elle suggère que ce niveau est la conséquence d'une forte utilisation des pesticides organochlorés pour la prévention et la lutte contre les termites dans les bâtiments de cette région.

2.3. SÉPARATION CHROMATOGRAPHIQUE

Selon les éléments bibliographiques (Chapitre 1), la technique chromatographique la plus répandue et adaptée à l'analyse des Dechloranes est la chromatographie en phase gazeuse (GC). Nous avons initialement étudié la rétention des Dechloranes sur trois colonnes chromatographiques différentes pour aboutir à une séparation optimale des 8 composés d'intérêt. En ce sens, ont été testées les colonnes suivantes :

- ZB-5HT Inferno (Phenomenex, Torrance, CA, USA), 5% phenyl – 95% dimethylpolysiloxane, 15 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,1 µm d'épaisseur.
- Rtx-1614 (Restek, Bellefonte, PA, USA), 5% diphenyl – 95% dimethylpolysiloxane, 15 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et de 0,1 µm d'épaisseur.
- DB-5MS (Agilent, Santa Clara, CA, USA), 5% phenyl – 95% dimethyl arylene polysiloxane, 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et de 0,1 µm d'épaisseur.

Le solvant d'injection choisi est le toluène car il est fréquemment utilisé dans les solutions standard commerciales. Pour les autres paramètres de GC, les données disponibles dans la littérature présentent peu de variabilités. En mode split/splitless, nous avons testé un gradient de température allant de 100 °C (2 min) à 280 °C (33 °C/min) puis 325 °C (5 °C/min, 6 min). Les températures d'injecteur et de ligne de transfert (colonne désactivée) ont été fixées à 250 °C et 300 °C. Le débit a été maintenu à 1 mL/min. Les résultats des paramètres de GC sont apparus satisfaisants dès le premier essai, à l'exception d'une co-élution du *syn*-DP et du Dec-601, quelle que soit la colonne chromatographique testée. Compte tenu du comportement de ces deux composés lors de l'ionisation, il apparaît que nombre de résultats de niveaux de prévalence en *syn*-DP publiés dans la littérature puissent être biaisés par une interaction du Dec-601. En effet, à notre connaissance, aucun auteur ne s'est intéressé au Dec-601 et sa présence pourrait être confondue avec celle de *syn*-DP, particulièrement en EI. Nous avons alors évalué une quatrième colonne, qui présente une phase stationnaire légèrement plus polaire que les 3 précédentes :

- HT8-PCB (SGE Analytical Science, Ringwood, Australia), 8% phenyl – polycarborane siloxane, 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et épaisseur non communiquée.

Les résultats obtenus avec la colonne la HT8-PCB sont apparus tout à fait satisfaisants en termes de séparation et ont notamment permis la séparation du *syn*-DP et du Dec-601 (Figure 21). Pour les autres composés d'intérêts, ils présentent le même ordre d'élution sur les 4 colonnes, le Dec-602 est le premier composé élué alors que l'*anti*-DP est le dernier. Ainsi, nous avons opté pour la colonne HT8-PCB. Dans les conditions retenues, les temps de rétention Dechloranes sont compris entre 11 et 22 minutes.

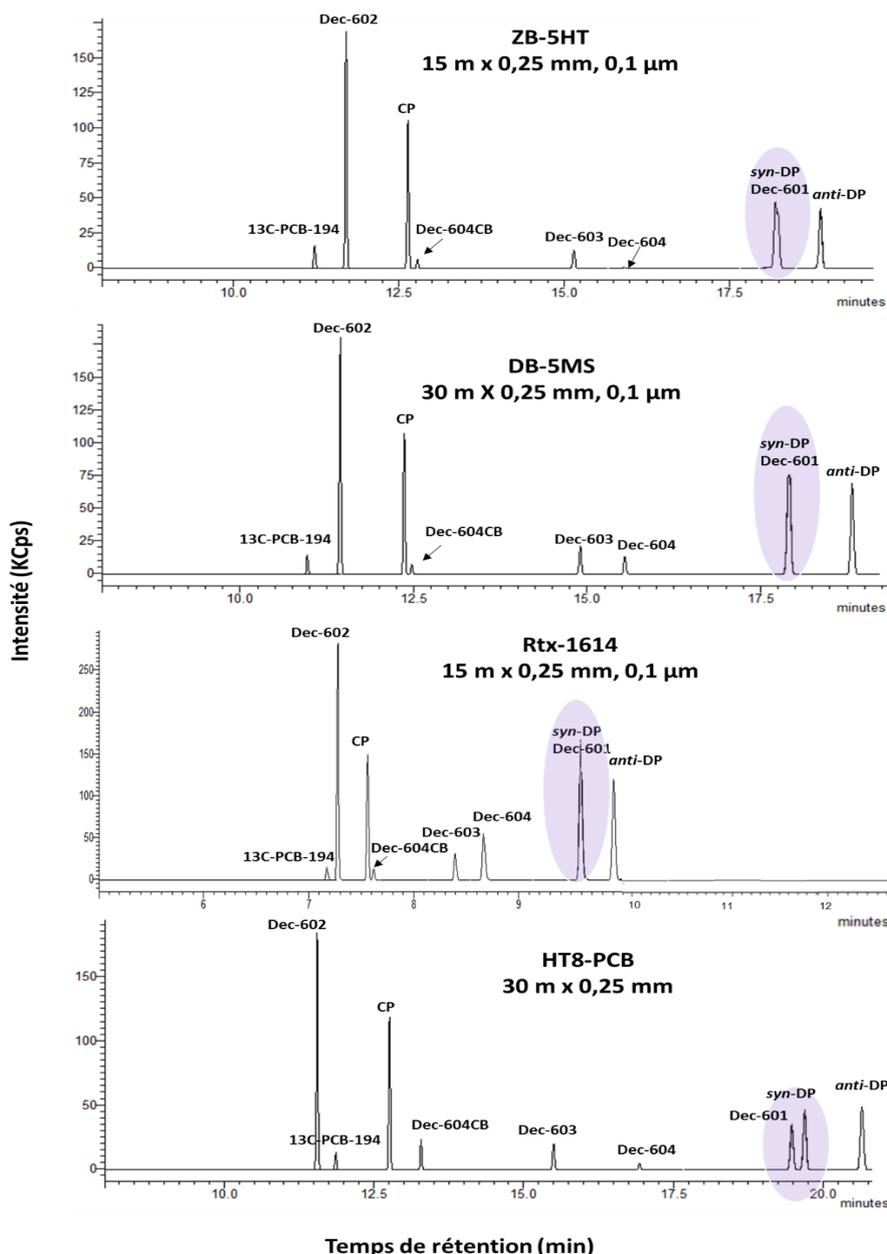


Figure 21 : Chromatogrammes d'ions totaux présentant les séparations des Dechloranes sur 4 colonnes capillaires. Quantités injectées en GC-EI-MS/MS : 4 ng de chaque Dechlorane et 800 pg de $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-194. Conditions opératoires décrites dans le texte.

2.4. CONCLUSION ET MÉTHODE INSTRUMENTALE FINALISÉE

Diverses stratégies de séparation basées sur la chromatographie en phase gazeuse et de détection par spectrométrie de masse basse ou haute résolution ont été envisagées et, le cas échéant, optimisées pour la détection, l'identification et la quantification de huit composés représentatifs de la famille des Dechloranes.

D'après les spectres de masse obtenus, nous avons conclu que (**Tableau 13**) :

- ✓ Dans le mode négatif, en NCI, les spectres de masses n'étaient pas satisfaisants du point de vue de la spécificité pour bien caractériser les composés d'intérêts ;
- ✓ En EI(+), l'ion moléculaire $[M]^+$ n'a pas (ou faiblement) été détecté. Une fragmentation importante, impliquant souvent l'ion $[C_5Cl_6]^+$ comme pic de base, a été observée, ce qui limite la sélectivité et la spécificité ;
- ✓ En APCI(+), il y a peu de différences entre conditions sèches et protiques. Le choix de conditions sèches s'avère donc préférable. La fragmentation apparaît plus réduite que par EI, l'ion moléculaire étant majoritaire pour la plupart des composés. Ainsi, sur standards, l'APCI(+) est apparu comme le meilleur choix en termes de spécificité, devant l'EI (+).

Tableau 13 : Comparaison entre les 3 modes d'ionisation investigués.

	EI	NCI	APCI(+) protique	APCI(+) sèche
Richesse d'information	++	+	++	++
Spécificité	+	+	++	++
Sensibilité	+	+	+	+

Des méthodes d'acquisition selon le mode SRM par APCI(+) en conditions sèches et par EI(+) ont été optimisées. Malgré la spécificité des transitions optimisées, l'approche par GC-APCI-MS/MS a été écartée en raison d'une instabilité incontrôlée, notamment sur matrice, compromettant l'applicabilité de la stratégie pour la poursuite du projet. Il s'agit d'une technique encore immature qui a été retenue dans premier temps puis rejetée suite à des essais sur matrice complexe. Elle nécessite encore quelques améliorations pour atteindre plus de robustesse. A défaut, le choix de l'EI a été fait, au prix de légères interférences entre composés natifs et marqués, que ce soit en mode SRM basse résolution ou en mode SIM haute résolution. Dans le cas du mode SRM basse résolution, le choix avisé des transitions suivies permet de

minimiser les interférences tout en limitant la perte de sensibilité. Dans le cas du mode SIM haute résolution, seule une résolution maximisée permet de contenir l'étendue des interférences. Finalement, malgré le vœu initial de recourir à une alternative à basse résolution, un couplage GC-EI-HRMS ($R \geq 10\ 000$) est apparu comme la technique de choix en termes de sensibilité et de spécificité pour l'analyse des Dechloranes dans des matrices biologiques complexes.

A l'issue de l'ensemble des développements concernant la séparation et la détection des Dechloranes, nous avons retenu une méthode GC-EI-HRMS sur un instrument disponible au laboratoire d'accueil et dont les paramètres sont repris ci-après. Le système GC-EI-HRMS est composé d'un chromatographe en phase gazeuse de type HP 6890 (HP, Palo Alto, CA, USA) couplé à un analyseur de masse électromagnétique haute résolution ($R \geq 10\ 000$) de type JMS 700D (Jeol, Tokyo, Japon).

En ce qui concerne la séparation chromatographique des composés d'intérêt, les différents essais et les critères souhaités nous ont permis de sélectionner une colonne HT8-PCB (SGE Analytical Science, Ringwood, Australie) de dimensions 30 m \times 0,25 mm avec un gradient en température allant de 100 °C (2 min) à 280 °C (33 °C/min) puis 325 °C (5 °C/min, 6 min) (**Figure 22**). L'injecteur était maintenu à 280 °C, avec une injection en mode splitless (2 μ L de toluène), un temps de purge de 1 min et un débit à 1 mL/min. Un insert simple avec de la laine de verre a été utilisé. La température de la ligne de transfert a été fixée à 280 °C. Il convient de rappeler que cette méthode permet de séparer le *syn*-DP du Dec-601, ce qui offre l'opportunité innovante de pouvoir faire un état des lieux du Dec-601 dans les échantillons analysés.

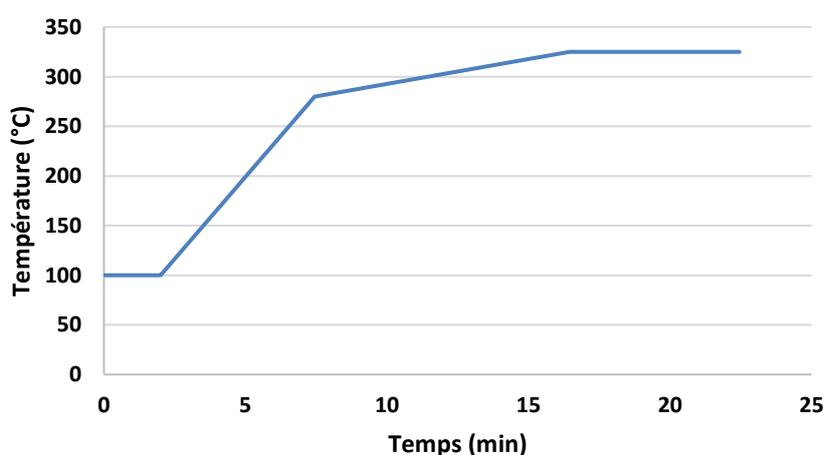


Figure 22 : Gradient de température GC retenu pour l'analyse des Dechloranes sur une colonne HT8-PCB.

En ce qui concerne les paramètres au sein de la source d'ionisation, la température était maintenue à 280 °C, l'énergie d'ionisation à 38 eV et l'intensité du filament à 400 µA. Dans ces conditions, une méthode SIM a été optimisée avec des temps de rétention des Dechloranes compris entre 11 et 20 minutes. Les paramètres d'acquisitions retenus sont présentés dans le **Tableau 14**. Néanmoins, en raison de performances insuffisantes en termes de sensibilité et de linéarité, le Dec-604 et le Dec-604CB ont été écartés pour la suite du projet. Ainsi, nous avons focalisé la suite du projet sur la recherche de 6 composés (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP), qui sont réunis sous l'appellation de Dechloranes (\sum_6 Dec).

Tableau 14 : Paramètres d'acquisition en mode SIM retenus pour l'analyse des Dechloranes par GC-EI-HRMS.

Composé	Ion	Quantifier (m/z)	Qualifier (m/z)	Ratio	Etalon interne
<i>anti</i> -DP	[C ₅ Cl ₆] ⁺	271,8096	273,8066	0,8065	¹³ C ₁₀ - <i>anti</i> -DP
<i>syn</i> -DP					¹³ C ₁₀ - <i>syn</i> -DP
Dec-601					¹³ C ₁₀ - <i>syn</i> -DP
Dec-602					¹³ C ₁₀ -Dec-602
CP					¹³ C ₁₀ -Dec-602
Dec-603	[C ₇ H ₂ Cl ₅] ⁺	262,8564	264,8535	0,6463	¹³ C ₁₀ -Dec-602
Dec-604	[C ₇ H ₂ Br ₄ Cl] ⁺	440,6531	419,7006	0,6811	¹³ C ₁₀ - <i>syn</i> -DP
Dec-604CB	[C ₇ H ₃ Br ₃ Cl] ⁺	362,7424	360,7446	0,9818	¹³ C ₁₀ - <i>syn</i> -DP
¹³ C ₁₀ - <i>anti</i> -DP ¹³ C ₁₀ - <i>syn</i> -DP ¹³ C ₁₀ -Dec-602	[¹³ C ₅ Cl ₆] ⁺	276,8263	278,8234	0,8057	-
¹³ C ₁₂ -PCB-194	[¹³ C ₁₂ H ₂ Cl ₈] ⁺	441,8008	439,8038	0,8889	-

En comparaison avec la littérature, la GC-EI-HRMS est parmi les méthodes les plus utilisées pour l'analyse des Dechloranes (Shen et al., 2010 ; Kim et al., 2016 ; Rjabova et al., 2016) ainsi que pour autres contaminants environnementaux tels que les RF bromés, les PCB et les dioxines (Vaccher et al., 2018 ; Vénisseau et al., 2018). Conformément aux informations disponibles dans la littérature, l'ion [C₅Cl₆]⁺ à m/z=271,8096 est l'ion suivi pour la plupart des Dechloranes.

Après l'optimisation de la partie instrumentale, autorisant la détection efficace des composés d'intérêt telle que décrite dans ce chapitre, nous avons orienté notre travail vers le deuxième objectif qui consistait à optimiser la méthode de préparation de l'échantillon afin d'amener à l'analyse des extraits enrichis et le plus purs possible en Dechloranes.

CHAPITRE 3

STRATÉGIE DE PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Une analyse chimique performante et robuste repose d'une part sur l'analyse quantitative grâce à une instrumentation sensible et sélective, objet du précédent Chapitre, et d'autre part sur une stratégie de préparation de l'échantillon efficace en termes de sélectivité (degré de purification, taux de recouvrement, reproductibilité), objet du présent Chapitre.

Au regard de la littérature et des données de prévalence disponibles, l'objectif initial de notre stratégie analytique a été de développer une méthode dédiée à l'analyse des Dechloranes dans le poisson et les matrices alimentaires d'origine animale pour, à terme, générer des données permettant de contribuer à l'évaluation de l'exposition alimentaire de l'homme à ces contaminants émergents. Les méthodes généralement employées par différentes équipes spécialistes du domaine de l'analyse des polluants organiques persistants pour l'analyse des RF halogénés (bromés et chlorés) dérivent le plus souvent de celles dédiées à l'analyse des polychlorodibenzo-*p*-dioxines, polychlorodibenzofuranes (PCDD/F) et PCB, structurellement très proches (composés très insaturés, polyhalogénés et lipophiles). Notre souhait premier était d'étendre la portée d'une méthode d'analyse multi-résidus déjà en vigueur au LABERCA pour plusieurs familles de contaminants de l'environnement aux Dechloranes. En effet, il eut été avantageux de pouvoir produire des données de prévalence pour un large panel de substances à partir d'une seule prise d'essai.

3.1. EVALUATION DE MÉTHODES DE PURIFICATION EN VIGUEUR AU LABERCA POUR L'ANALYSE DES PCDD/F ET PCB

Plusieurs méthodes dédiées à l'analyse des PCDD/F et PCB dans les denrées alimentaires, incluant parfois également des RF bromés (PBDE, hexabromocyclododecane, tetrabromobisphenol A), sont en vigueur au LABERCA. Notre premier objectif était de vérifier si l'une d'elles pouvait s'adapter directement aux Dechloranes, avec pour critère l'obtention de rendements d'extraction supérieurs à 60%.

3.1.1. MÉTHODE MANUELLE DÉDIÉE AUX PCDD/F ET PCB

Cette première méthode multi-résidus (LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04) qui a fait ses preuves au LABERCA pour l'analyse des PCDD/F, des PCB de type dioxin-like (PCB-DL) et des PCB de type non dioxin-like (PCB-NDL), est basée sur l'utilisation de 3 colonnes ouvertes successives de purification et de fractionnement, remplies et opérées manuellement (**Figure 23**) :

- Une première colonne (ø 2,5 cm) de gel de silice (5 g neutre, 20 g à 22% H₂SO₄ et 25 g à 44% H₂SO₄) permet de dégrader et d'éliminer la majeure partie de la matière grasse et d'éluer les PCDD/F, PCB et PBDE (*n*-hexane). Comme décrit dans le Chapitre 1, le rôle de l'acide sulfurique est de dégrader la matière grasse des extraits en composés polaires qui sont dès lors piégés sur la silice, préférentiellement en tête de colonne grâce au gradient établi par les différentes couches (44%, 22% et neutre). Une dégradation des lipides très efficace de l'extrait peut ainsi être envisagée.
- Une seconde colonne (ø 1 cm) de Florisil® (6 g, 3% H₂O) permet de séparer les PCB et PBDE (*n*-hexane) des PCDD/F (toluène) ;
- Une troisième colonne (ø 0,5 cm) d'une part de charbon/célite (0,25 g) permet une purification supplémentaire des PCDD/F (toluène), et d'autre part de Florisil®/charbon/célite (0,5 g) permet de séparer les PBDE et PCB non coplanaires (*n*-hexane) des PCB coplanaires (toluène).

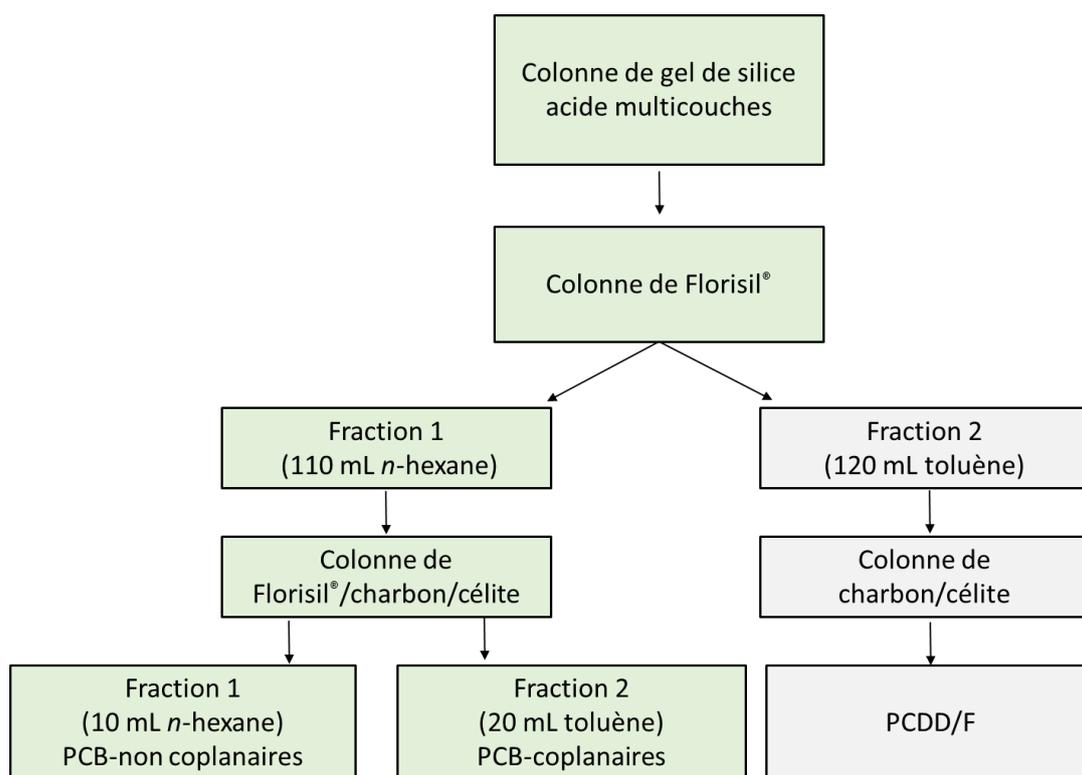


Figure 23 : Procédure de purification manuelle de la méthode LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 pour l'analyse des PCDD/F et PCB.

Au regard des données bibliographiques sur ce type de phase, nous avons formulé l'hypothèse que les Dechloranes seraient préférentiellement élués avec la fraction PCB non coplanaires. Après le dépôt d'un mélange des 3 composés de Dechloranes marqués (^{13}C -*anti*-DP, ^{13}C -*syn*-DP et ^{13}C -Dec-602) sur la série de 3 colonnes (silice acide, Florisil[®] et Florisil[®]/charbon/célite), nous avons constaté que l'*anti*-DP et le *syn*-DP n'avaient été recouverts dans aucune des deux fractions, contrairement au Dec-602 qui a été récupéré dans la Fraction 1, à un rendement de 82% (**Figure 24**). Ainsi, l'*anti*- et le *syn*-DP semblent avoir été retenus sur l'une des colonnes de purification, ce qui écarte directement l'utilisation de cette première approche manuelle sans modification. La même méthode propose une approche automatisée sur un système MIURA, dont le principe est légèrement différent.

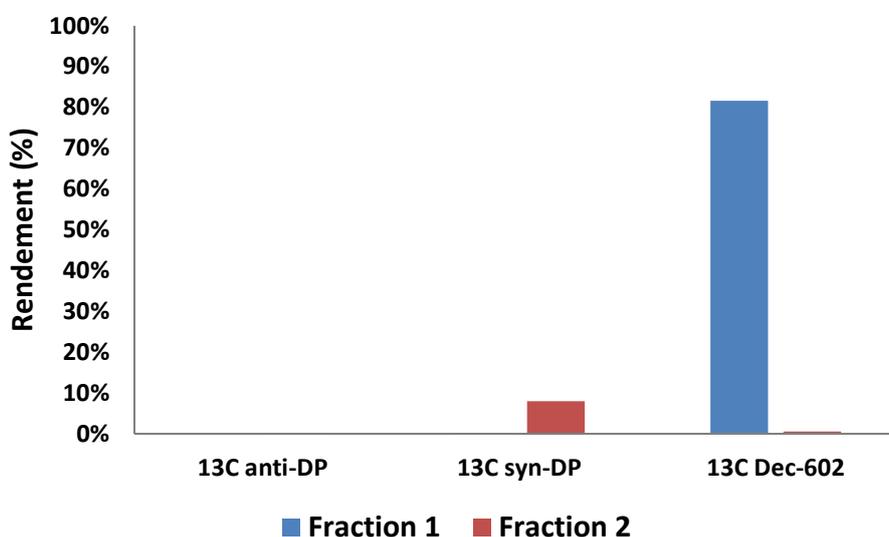


Figure 24 : Rendements d'extraction (n=1) obtenus pour les Dechloranes marqués (^{13}C -*anti*-DP, ^{13}C -*syn*-DP et ^{13}C -Dec-602) suivant la méthode de purification manuelle LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04. Analyse par GC-APCI-MS/MS.

3.1.2. MÉTHODE AUTOMATISÉE DÉDIÉE AUX PCDD/F ET PCB

La société MIURA commercialise un ensemble constitué d'un extracteur automatisé mettant en œuvre trois colonnes successives de purification (silice/nitrate d'argent ; silice) et de fractionnement (charbon puis alumine) (**Figure 25**).

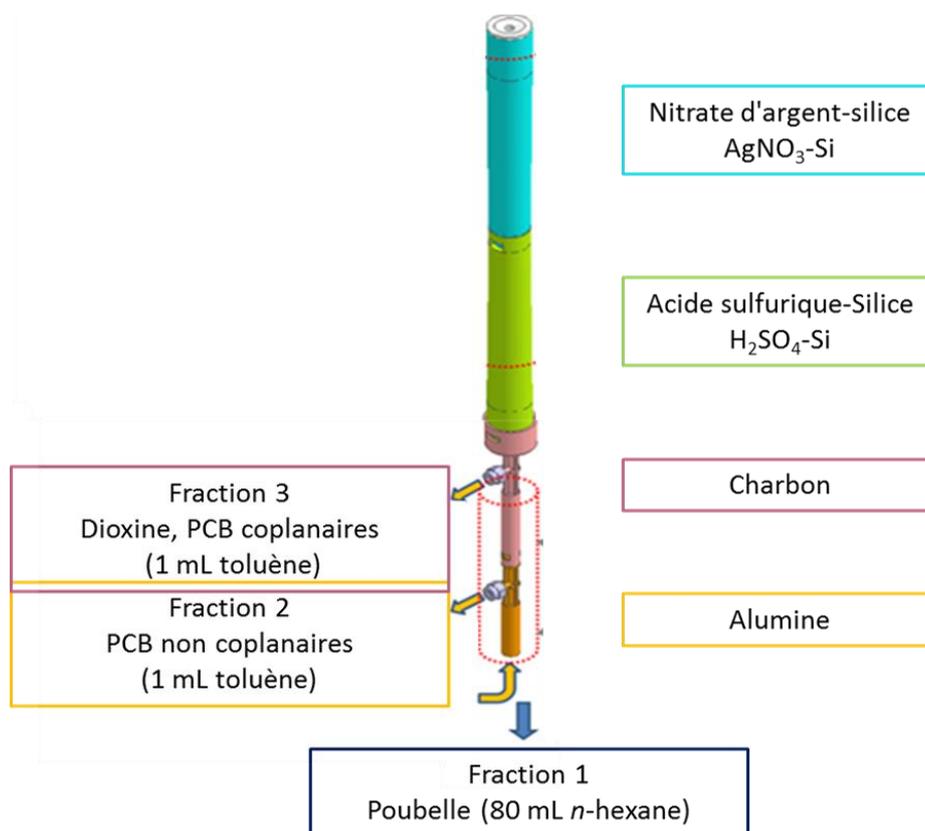


Figure 25 : Procédure de purification automatisée de la méthode LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 pour l'analyse des PCDD/F et PCB.

Après le dépôt d'un mélange des 3 composés de Dechloranes marqués, nous avons collectés trois fractions suivant des conditions d'élution sur lesquelles l'opérateur n'a pas la main :

- La fraction 1 (poubelle) par une élution avec 80 mL de *n*-hexane sur tout le système.
- La fraction 2 (PCB non coplanaires) par élution en sens inverse (backflush) avec du toluène, sortie colonne alumine
- La fraction 3 (PCDD/F et PCB coplanaires) par élution en sens inverse (backflush) avec du toluène, sortie colonne charbon.

L'*anti*- et le *syn*-DP n'ont été convenablement recouverts dans aucunes des fractions alors que le Dec-602 a été récupéré dans la fraction 2 (PCB-NDL) à un rendement proche de 80% avec un écart-type relativement faible (**Figure 26**). Il est possible que les volumes d'élution soient trop faibles ou qu'une partie des composés d'intérêts soit trop fortement retenue sur une phase. Dans les deux cas, les résultats obtenus ne sont pas plus satisfaisants que ceux obtenus avec l'approche manuelle de la même méthode, ce qui démontre définitivement l'incompatibilité de cette dernière avec notre objectif d'analyse des Dechloranes.

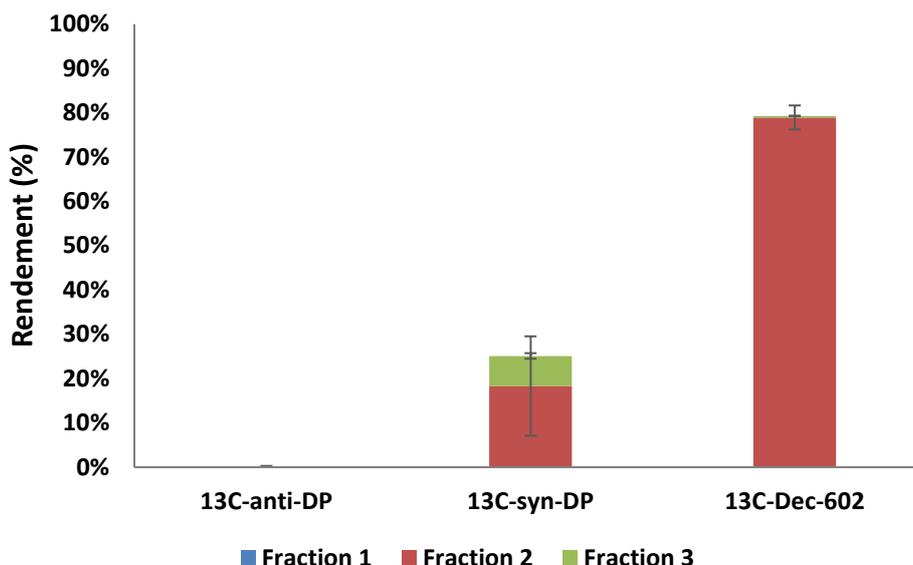


Figure 26 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes marqués (^{13}C -anti-DP, ^{13}C -syn-DP et ^{13}C -Dec-602) suivant la méthode de purification automatisée, LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04. Analyse par GC-EI-MS/MS.

Un troisième protocole en vigueur au LABERCA, dédié à l'analyse des seuls PCB-NDL, a été évaluée, puisque selon la littérature, nous attendions que les Dechloranes soient purifiés selon les mêmes conditions que cette famille de polluants.

3.1.3. MÉTHODE MANUELLE DÉDIÉE AUX PCB-NDL

La méthode LABERCA/DGAI/PCBNDL-tma.2.02, dédiée à l'analyse des PCB-NDL dans les denrées alimentaires, est basée sur l'utilisation d'une unique colonne (\varnothing 1 cm) de silice acide (4 g neutre, 8 g à 22% H_2SO_4 et 10 g à 44% H_2SO_4) et de Florisil[®] (6 g purs), éluée avec 120 mL de *n*-hexane. Après le dépôt du même mélange des 3 composés de Dechloranes marqués que précédemment, les rendements d'extraction obtenus sont globalement compris entre 29 et 55% (**Figure 27**). Ces résultats encourageants ne se sont toutefois toujours pas avérés satisfaisants (rendements inférieurs à 60%, avec un écart-type élevé pour le Dec-602, contrairement à notre objectif initial), vraisemblablement pour des raisons similaires aux autres méthodes testées et que nous n'avons pas investigué plus avant.

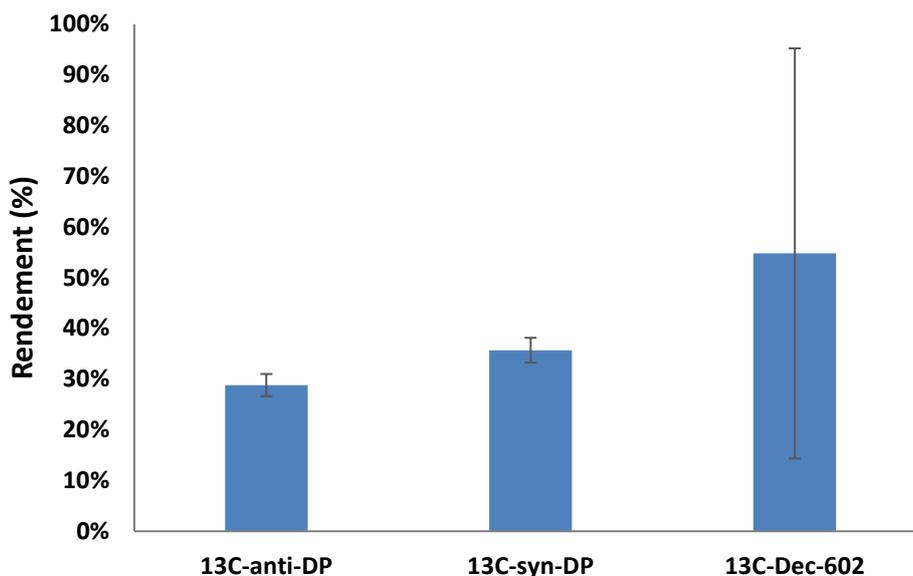


Figure 27 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes marqués (^{13}C -anti-DP, ^{13}C -syn-DP et ^{13}C -Dec-602) suivant la méthode de purification manuelle, LABERCA/DGAI/PCBNL-tma.2.02. Analyse par GC-EI-MS/MS.

A ce stade, aucune des trois méthodes testées ne s'est révélée adaptée aux Dechloranes selon les critères initialement fixés, i.e. rendements d'extractions supérieur à 60% et écart-type le plus faible possible. Ainsi, notre souhait premier de prendre avantage, sans aucune modification, d'une méthode d'analyse multi-résidus déjà en vigueur au LABERCA pour d'autres contaminants s'est avérée être une voie sans issue. Dès lors, nous avons orienté notre travail vers un développement spécifique afin d'aboutir à une purification efficace et des rendements d'extraction satisfaisants.

3.2. DÉVELOPPEMENTS SPÉCIFIQUES DE PURIFICATION

Suite aux essais réalisés précédemment, et en s'inspirant des méthodes présentées dans la littérature, nous avons envisagé de recourir à la chromatographie sur colonne (silice, Florisil®) et/ou à la CPG, les deux techniques les plus répandues.

Une des principales difficultés de l'analyse de contaminants chimiques lipophiles est de les isoler des autres composants de la matière grasse. Nous avons donc testé en premier lieu le comportement des Dechloranes sur une colonne de silice acide, en partant de la première des trois colonnes de purification manuelle de la méthode LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 (§ 3.1.1.)

3.2.1. PREMIÈRE ÉTAPE : COLONNE DE SILICE MULTICOUCHES

3.2.1.1. Colonne de silice acide multicouches

La colonne manuelle de la méthode LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 permet de dégrader jusque 2-3 g de matière grasse. Pour rappel, une colonne en verre (\varnothing 2,5 cm) est remplie avec trois couches de silice (5 g neutre, 20 g à 22% H₂SO₄ et 25 g à 44% H₂SO₄, de bas en haut), comprises entre deux couches de Na₂SO₄ anhydre (2 x 5 g). Elle est conditionnée avec 100 mL de *n*-hexane et éluée avec 120 mL après dépôt de l'extrait dans 2 fois 15 mL du même solvant. Ce protocole a été testé en déposant un échantillon d'huile de poisson fortifiée par des Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP). Le *n*-hexane et un mélange *n*-hexane/DCM (1:1, v/v), plus éluotrope, ont été testés pour l'éluotion, lors de deux essais distincts. Les éluâts se sont avérés relativement purs après piégeage efficace de la matière grasse sur la couche de silice acide. Dans les deux cas, les rendements obtenus par cette colonne de silice multicouches sont apparus satisfaisants au regards de nos objectifs (>60%) (**Figure 28**). Ce résultat permet ainsi de porter un regard critique sur les protocoles précédemment évalués et de conclure que les étapes sur silice sont ainsi hors de cause dans la non adéquation des méthodes en vigueur initialement testées. Cela permet de bénéficier de l'efficacité de la silice acide pour éliminer efficacement la majeure partie de la matière grasse co-extraite. Afin d'éviter l'utilisation de DCM, plus éluotrope, nous avons conservé le *n*-hexane pour l'éluotion sur colonne de silice.

Afin de déterminer le volume de solvants organiques nécessaire et suffisant pour l'éluotion, trois fractions successives de *n*-hexane ont été collectées (80, 40 et 40 mL, pour les fractions 1 à 3, respectivement) (**Figure 29**). Tous les composés d'intérêts ont été élués dans la fraction 1 (rendements supérieurs à 70%), excepté une petite partie d'*anti*-DP dans la fraction 2. Donc, il est apparu que le volume 80 mL peut ainsi être considéré suffisant pour éluer tous les composés d'intérêt. Nous avons finalement opté pour une éluotion plus prudente par 100 mL de *n*-hexane, afin d'assurer un taux de récupération maximal, sous réserve de confirmer l'efficacité et la pertinence de ce choix lors de l'application sur matrice complexe.

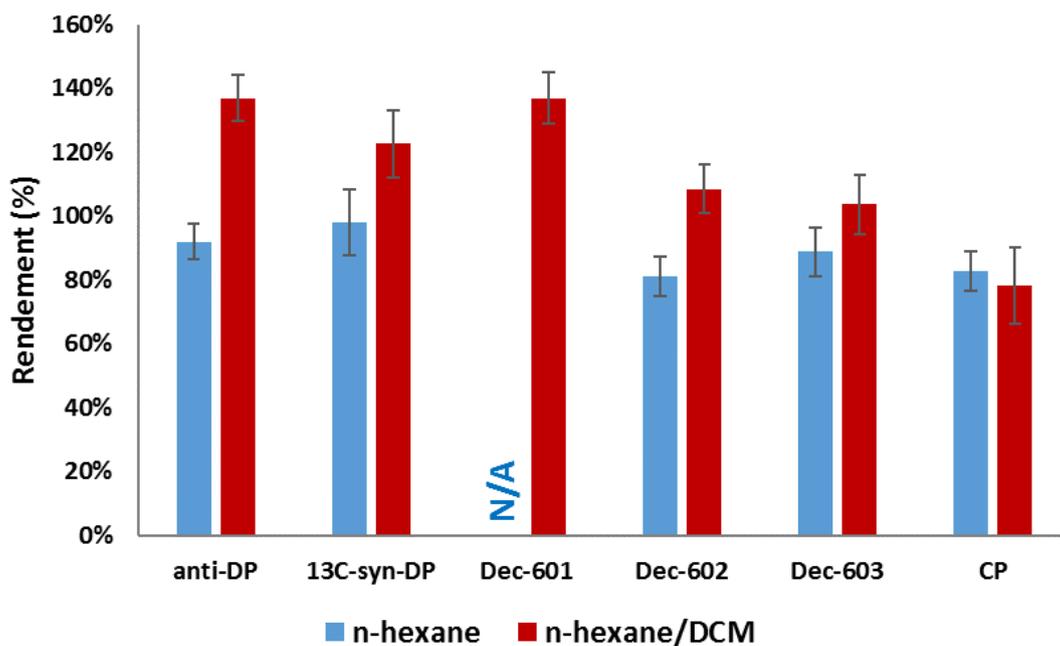


Figure 28 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) après purification sur colonne de silice acide, avec élution par du *n*-hexane ou par un mélange *n*-hexane/DCM 1:1 (v/v). Analyse par GC-EI-MS/MS.

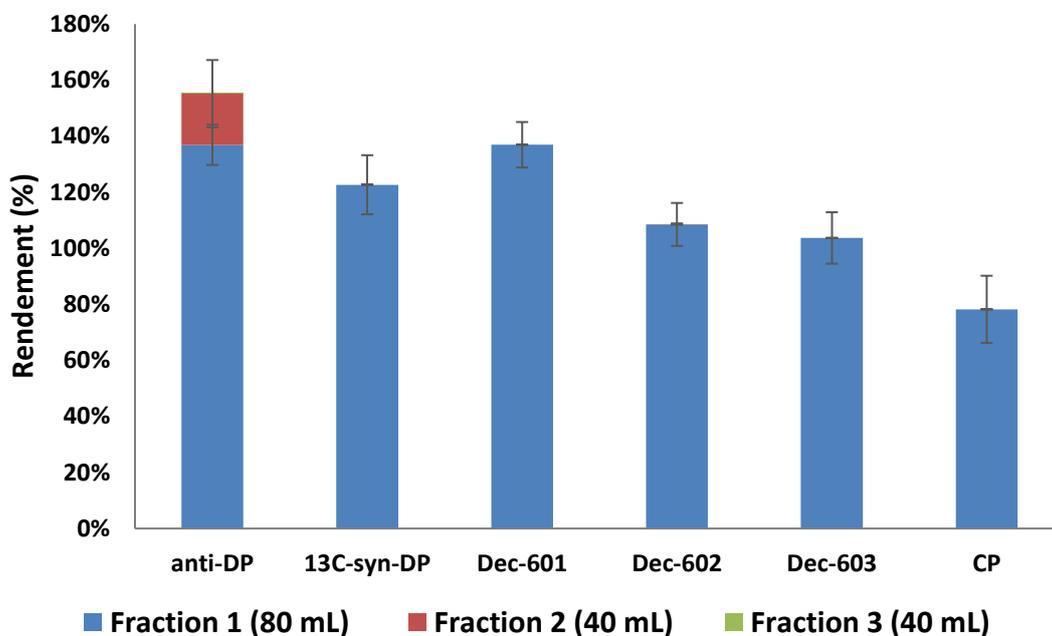


Figure 29 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) après purification sur colonne de silice acide, suivant 3 fractions d'élution par du *n*-hexane. Analyse par GC-EI-MS/MS.

3.2.1.2. Ajout d'une couche de silice basique

Pour certaines matrices complexes, la colonne de silice seule s'est avérée insuffisante. De ce point de vue, nous avons initialement investigué un partage liquide-liquide (LLE) entre la soude 1 N (1 mL) et le *n*-hexane (7 mL). Ce partage a pour fonction de piéger des interférents acides sous forme dissociée et d'augmenter en conséquence le degré de purification, surtout pour les matrices complexes. Pour évaluer les éventuelles pertes de Dechloranes dans la soude, nous avons effectué une extraction de cette fraction par du *n*-hexane après augmentation du pH (1,2 mL d'HCl 1 N).

Les résultats obtenus (**Figure 30**) montrent que l'ensemble des composés d'intérêt reste dans la phase organique (*n*-hexane) (rendements supérieurs à 60% et des écarts-types relativement faibles). Les rendements résiduels observés dans la fraction soude peuvent s'expliquer par une imprécision du pipetage de la phase organique. Les valeurs plus élevées obtenues pour l'*anti*-DP viennent vraisemblablement d'une contamination procédurale mal maîtrisée à ce moment. Cette contamination explique également les rendements parfois légèrement plus élevés observés pour l'*anti*-DP sur colonnes de silice (§ 3.2.1.1.)

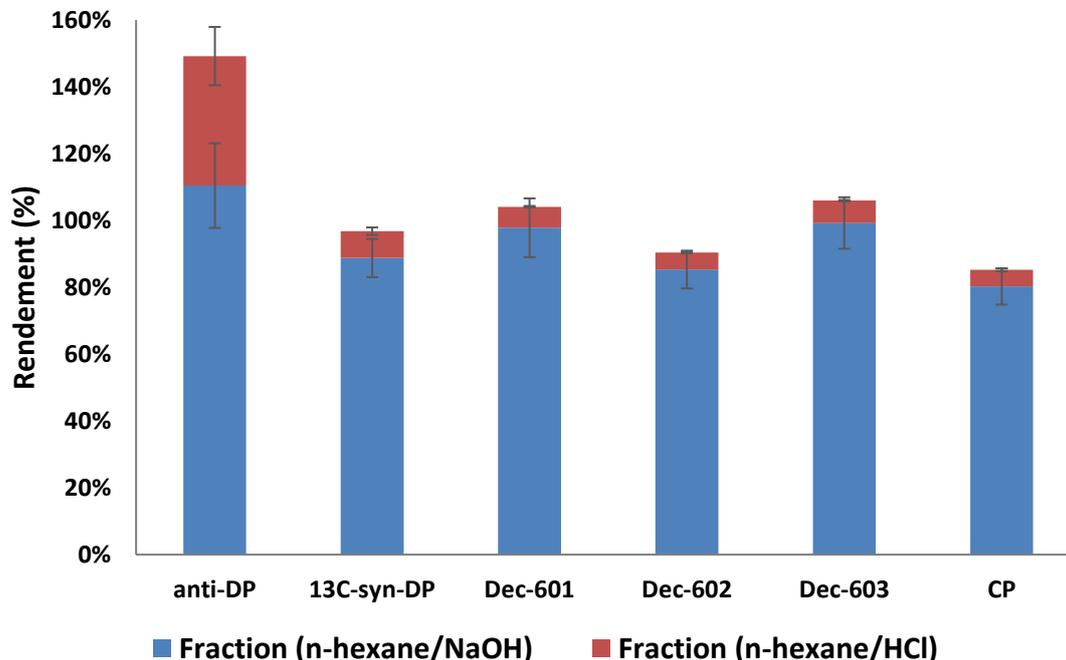


Figure 30 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) après partage entre *n*-hexane et NaOH 1 N puis *n*-hexane et HCl (1 N). Analyse par GC-EI-MS/MS.

Si l'étape de LLE telle que décrite aurait plus être mise en œuvre telle quelle, elle présente toutefois un certain nombre d'inconvénients, parmi lesquels des manipulations supplémentaires et un risque accru de contamination procédurale, que nous avons souhaité contourner. Ainsi, nous avons inséré directement la soude sur la colonne de silice optimisée. Selon la méthode EPA 8280B dédiée aux PCDD/F, pour 100 g de silice neutre activée (180 °C pendant 16 h), nous avons ajouté 50 g de NaOH (1 N).

Nous avons ajouté en bas de la colonne de silice multicouches deux couches de silice neutre (5 g) et de silice basique (5 g, 32,3% NaOH 1 N), du bas vers le haut, soit un volume équivalent de 1,55 mL de NaOH 1 N.

Afin de valider le remplacement de la LLE par la couche de silice basique, nous avons déposé un échantillon d'huile de poisson fortifiée par un mélange de Dechloranes natifs (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602 et CP) sur une colonne de silice multicouches, neutre, acide et basique (n=3) et le même échantillon (n=3) sur une colonne de silice neutre et acide suivie d'un partage liquide-liquide *n*-hexane/NaOH 1 N). Les rendements d'extraction des deux expériences sont apparus similaires, autour de 100% avec des CV inférieurs à 11% (**Figure 31**). Pour la suite de nos expériences, nous avons remplacé la LLE par une couche de silice basique insérée dans la colonne de silice multicouches optimisée.

En résumé, le protocole analytique développé (colonne silice multicouches : neutre, acide et basique) apparaît particulièrement efficace en termes de purification (lipides, composés acides), tout en assurant un taux de recouvrement supérieur à 60% pour les Dechloranes dans des échantillons d'huile de poisson. L'efficacité de cette colonne seule a alors été testée sur matrice plus complexe, comme par exemple un extrait de moule. Un effet de matrice important a été observé (présence d'interférent co-élus, suppression d'ion) témoignant d'une purification insuffisante des lipides dans les extraits. Les données correspondantes ne sont pas présentées mais le phénomène est illustré au § 3.2.2.3 relatif à la sélection d'une étape de purification complémentaire. En effet, au regard des objectifs de la thèse, il s'est avéré nécessaire d'ajouter une seconde étape de purification afin d'augmenter le degré de pureté des échantillons.

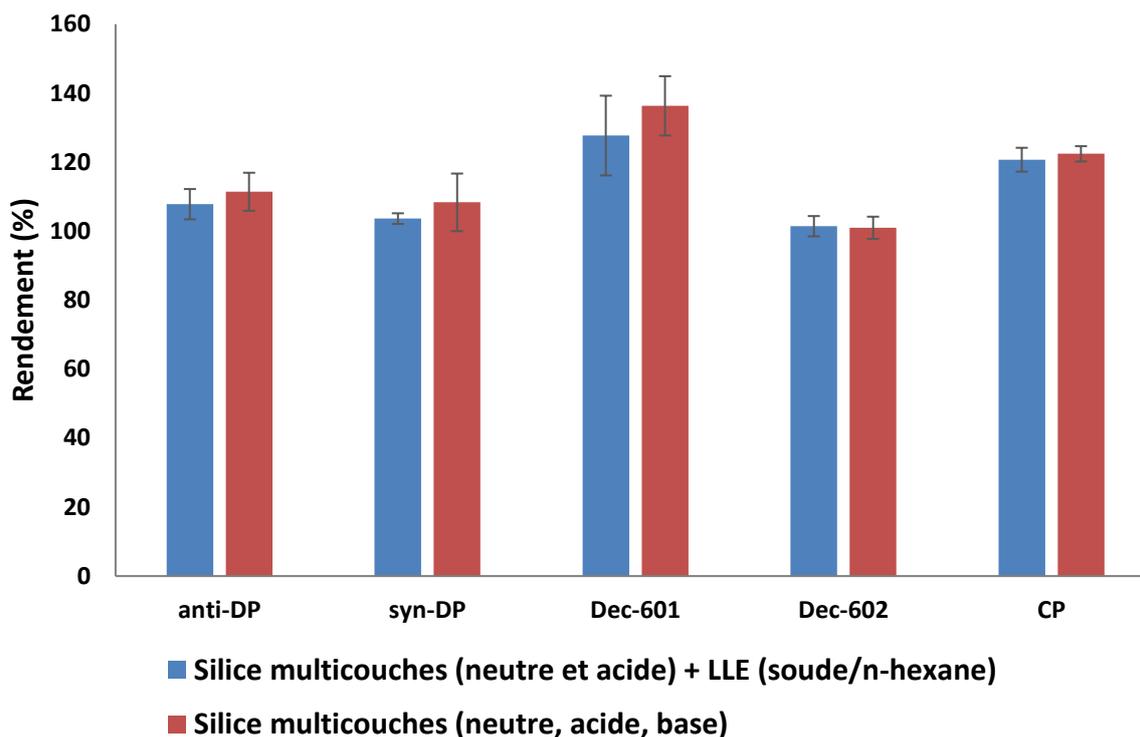


Figure 31 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602 et CP), d'une part par purification sur colonne de silice (neutre et acide) suivie d'un partage soude/*n*-hexane (n=3) et d'autre part sur une colonne de silice multicouches (neutre, acide, basique) (n=3) d'un échantillon d'huile de poisson. Analyse par GC-EI-MS/MS.

3.2.2. SECONDE ÉTAPE DE PURIFICATION

Pour servir de seconde étape de purification et en accord avec les données de la littérature, deux techniques ont été pressenties, à savoir une colonne de Florisil® et la CPG.

3.2.2.1. Colonne de Florisil®

Nous avons d'abord testé le comportement des molécules d'intérêts sur une colonne de Florisil®, dans une quantité et une géométrie correspondantes au bas de la colonne de purification manuelle de la méthode LABERCA/DGAI/PCBNDL-tma.2.02 dédiée à l'analyse des PCB (voir § 3.1.3).

Pour ce faire, un échantillon d'huile de poisson (1 g), préalablement purifié sur la colonne de silice multicouches optimisée, a été fortifié en un mélange de Dechloranes natifs (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP). Après dépôt sur une colonne de Florisil® (6 g)

conditionnée dans du *n*-hexane, une première fraction a été collectée avec 100 mL de *n*-hexane, similairement à la méthode en vigueur pour les PCB. Additionnellement, une seconde fraction a été collectée avec 80 mL de DCM, un solvant plus éluotrope.

Les rendements d'extraction obtenus pour le Dec-602, le Dec-603 et le CP dans la fraction 1 sont supérieurs à 60%, avec des écarts-types relativement faibles (**Figure 32**). En revanche, pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-601, les rendements d'extraction obtenus dans la fraction 1 seule sont inférieurs à 60%, mais atteignent 60% en cumulant avec la fraction 2.

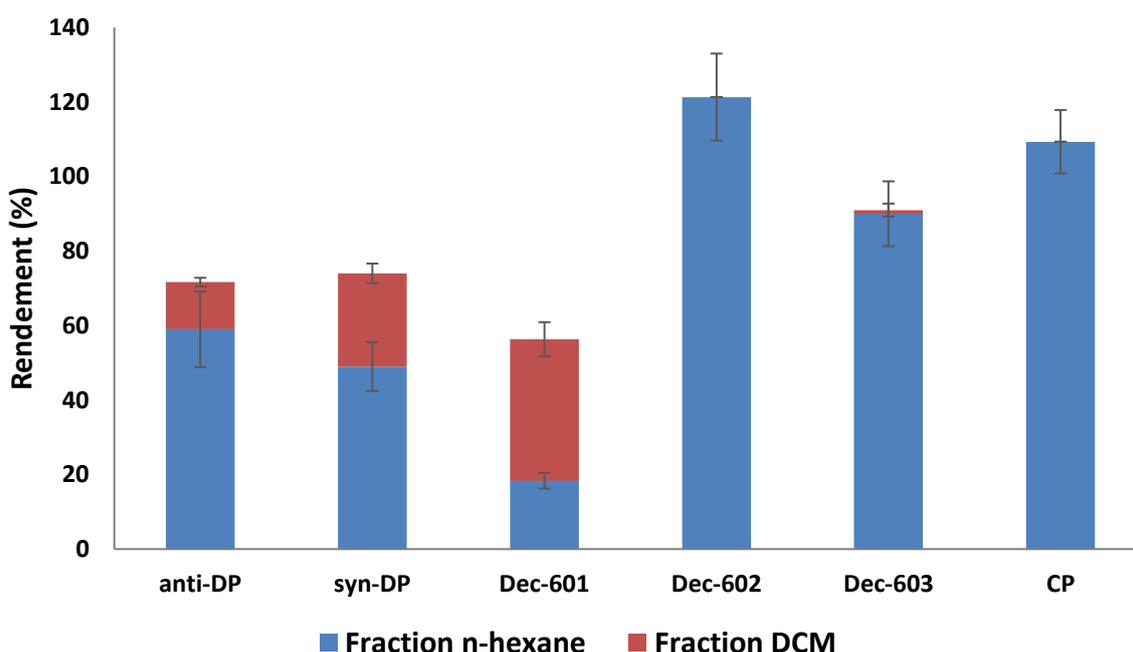


Figure 32 : Rendements d'extraction (n=3) obtenus pour les Dechloranes (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) sur colonne de Florisil®, par une élution de deux fractions successives de *n*-hexane puis de DCM, pour un extrait d'huile de poisson préalablement purifié sur colonne de silice. Analyse par GC-EI-MS/MS.

Ainsi, l'élution par le *n*-hexane seul n'étant pas suffisante, nous avons investigué différents mélanges de 100 mL de *n*-hexane et DCM pour déterminer la proportion nécessaire et suffisante de DCM pour l'élution de l'ensemble des Dechloranes. Les rendements d'extraction obtenus (**Figure 33**) avec un volume de 100 mL de *n*-hexane/DCM 80:20 (v/v) nous sont apparus satisfaisants (>60%) pour l'ensemble des analytes, contrairement à ceux obtenus à 100% de *n*-hexane où les rendements d'extraction d'*anti*-DP, de *syn*-DP et de Dec-601 sont conformes à ceux du précédent essai.

Par intrapolation et afin d'assurer un taux de récupération maximal des composés d'intérêts, nous avons finalement opté pour une élution par 120 mL avec une proportion plus large de *n*-hexane/DCM 70:30 (v/v).

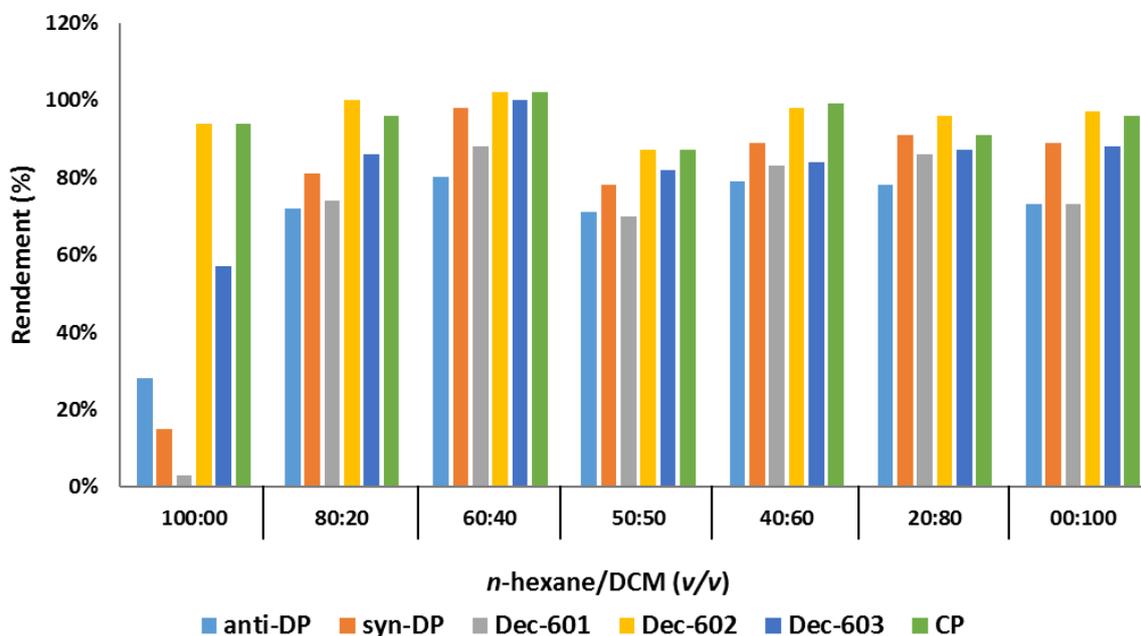


Figure 33 : Rendements d'extraction (n=1) obtenus pour les Dechloranes sur colonne de Florisil® par une élution en proportions variables d'un mélange *n*-hexane/DCM, pour un extrait d'huile de poisson préalablement purifié sur colonne de silice.

3.2.2.2. Chromatographie par perméation de gel

La CPG permet de séparer des composés en fonction de leur encombrement stérique. Elle autorise notamment la séparation entre des macromolécules et des molécules de taille plus petite. Le système CPG disponible au LABERCA consiste en une colonne adaptée à la séparation entre petites molécules et lipides. De géométrie 58 cm de longueur par 24,4 mm de diamètre, elle est remplie d'une phase stationnaire de type Bio-Beads S-X3 (voir § 1.2.4.2), gonflée avec un mélange d'acétate d'éthyle/cyclohexane (1:1, v/v), utilisé comme phase mobile à un débit de 5 mL/min. Le volume d'injection a été fixé à 500 µL, la capacité étant considérée comme 200 mg de matière grasse (extrait à injecter dilué dans le mélange de phase mobile). Un détecteur de type UV 2489 a été utilisé comme système de détection pour ajuster la collecte en fonction de l'élution du bis(2-ethylhexyl) orthophtalate et du pérylène.

Afin d'identifier la fraction dans laquelle sont élués les composés d'intérêts, nous avons injecté d'une part un mélange des 6 composés natifs (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603, CP), et d'autre part une solution d'huile de tournesol (environ 15 mg). Nous avons collecté une fraction toutes les 2 minutes (soit 10 mL). Tel que décrit sur la **Figure 34**, l'huile de tournesol a été éluée dans les fractions comprises entre 12 et 18 min, alors que les Dechloranes l'ont été dans les fractions comprises entre 22 et 30 min. La séparation semble donc efficace, même s'il serait utile de réitérer l'expérience avec d'autres types de matières grasses. Nous avons finalement opté pour une fraction de collecte des Dechloranes un peu plus large de 24 à 36 min (soit 60 mL), afin d'assurer un taux de récupération optimal.

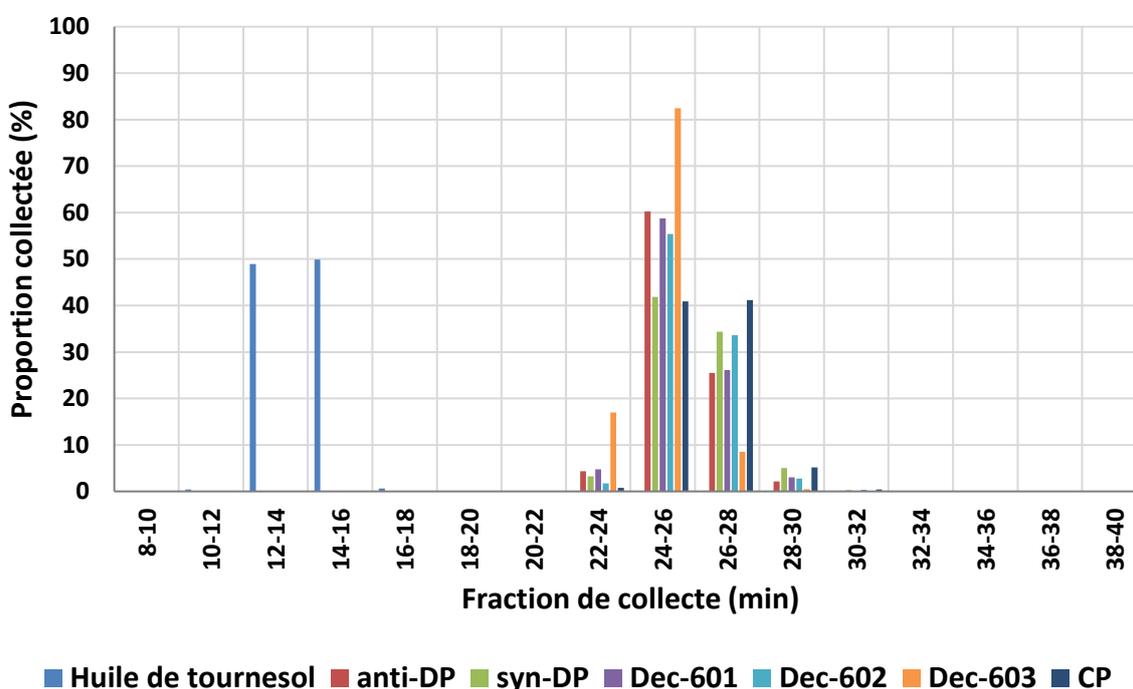


Figure 34 : Profil d'élution obtenu pour une huile de tournesol et les Dechloranes par CPG. Analyse par détecteur UV et GC-EI-MS/MS, respectivement.

3.2.2.3. Sélection de la seconde étape de purification

Pour déterminer laquelle de ces deux techniques (Florisil® ou CPG) est la plus efficace, nous avons utilisé un échantillon de farine de poisson qui a été précédemment purifié sur la colonne de silice multicouches optimisée. Cet extrait a été fractionné en deux fractions égales, purifiées suivant les protocoles optimisés sur Florisil® et par CPG, respectivement, et analysées par GC-EI-HRMS.

En GC-EI-HRMS, le calibrant utilisé est le perfluorokérosène (PFK). Le PFK, libéré en continu dans la source par l'intermédiaire d'une vanne pointeau, produit des ions de m/z pouvant monter à plus de 400 et dont les masses exactes connues servent de référence pour la calibration de l'analyseur de masse.

Idéalement, le signal du PFK doit rester constant au cours de l'acquisition, ce qui atteste de l'absence de suppression du signal. D'après la **Figure 35**, une purification supplémentaire par Florisil® n'a pas résolu le phénomène de suppression d'ion, centré autour du temps de rétention du Dec-602. En revanche, le recours à la CPG semble avoir permis de s'affranchir du problème.

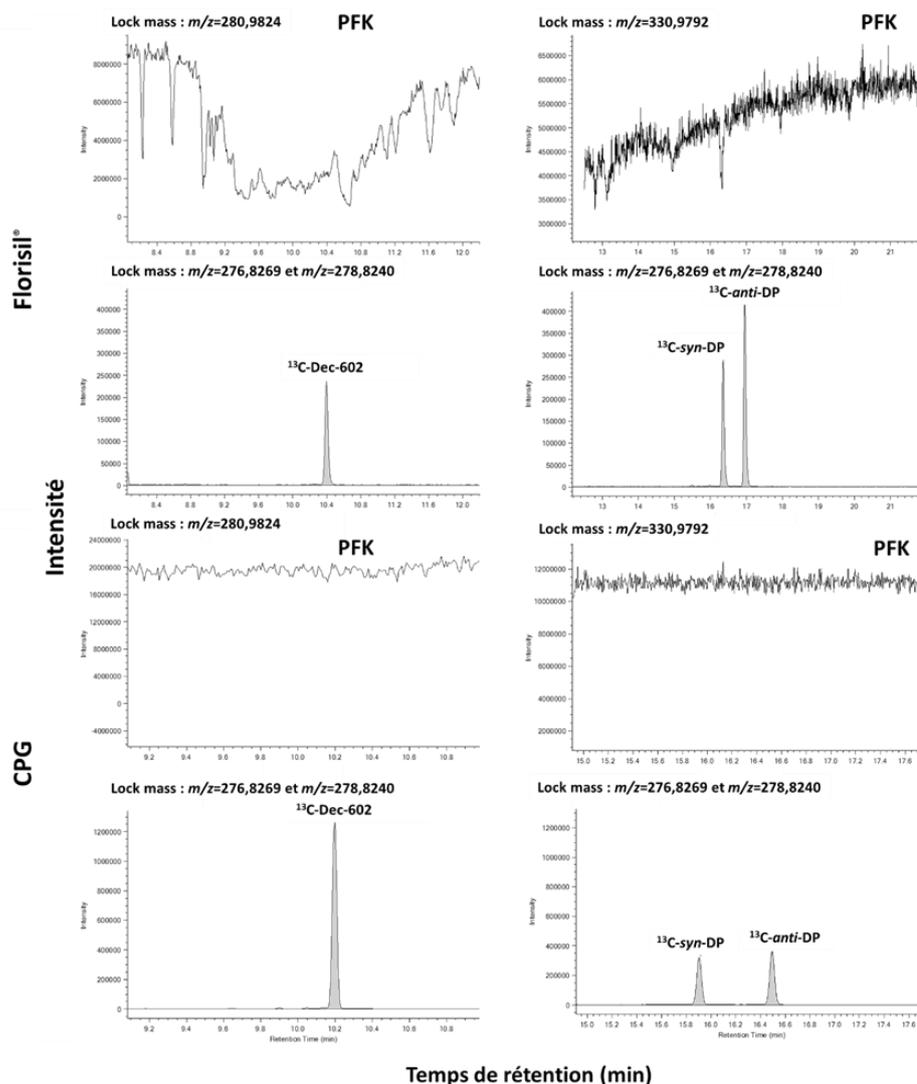


Figure 35 : Chromatogrammes d'ions obtenus pour le PFK et les Dechloranes marqués pour un échantillon de farine de poisson purifié sur colonne de silice multicouches, en combinaison avec une colonne de Florisil® (haut) ou une étape de CPG (bas) optimisées. Analyse par GC-EI-HRMS.

Pour étendre la conclusion que, contrairement à la colonne de Florisil[®], la CPG est une technique de purification efficace pour éliminer les interférents restants après le passage sur colonne de silice multicouches, nous avons testé la CPG sur un panel de matrices complexes. La **Figure 36** présente les aires des signaux du ¹³C-Dec-602 obtenus pour divers produits d'origine animale purifiés sur colonne de silice multicouche puis sans et avec CPG.

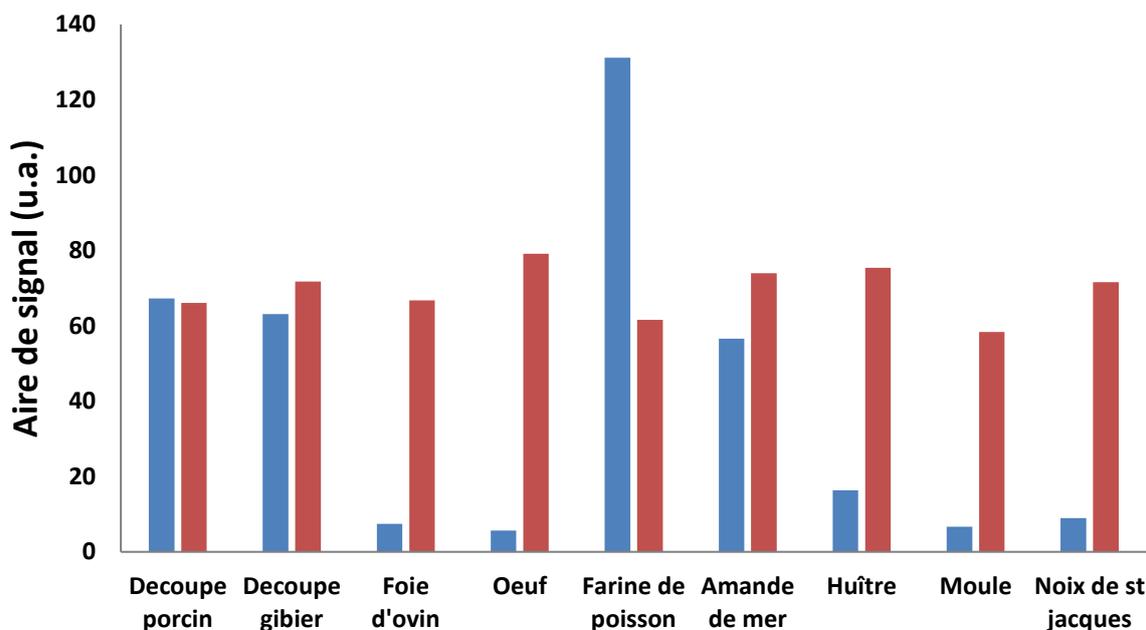


Figure 36 : Aires des signaux du ¹³C-Dec-602 (n=1) en u.a. (unité arbitraire) obtenus pour les extraits de différents types de matrices alimentaires purifiés sur colonne de silice multicouches optimisée puis sans (bleu) et avec (rouge) CPG. Analyse par GC-EI-HRMS.

Avec la CPG, l'aire des signaux du ¹³C-Dec-602 apparaît relativement constante pour les différentes matrices investiguées, avec un CV d'environ 10%. Suivant l'observation des chromatogrammes d'ion du PFK et des niveaux de signal attendus au regard d'injections de standards, aucun effet de matrice significatif ne semble avoir lieu. En revanche, sans CPG, l'aire des signaux du ¹³C-Dec-602 varie grandement entre les différents types de matrices. Elle est parfois similaire (viande), témoignant d'une complexité relative de ce type de matrice, parfois élevée (farine de poisson), témoignant d'une interférence majeure contribuant au signal, et parfois très faible (œuf, foie, fruits de mer), témoignant d'un fort effet de suppression d'ion.

Ces résultats confirment l'adéquation de la CPG pour atteindre un niveau suffisant de purification des échantillons, et ce pour des matrices complexes et variées. En ce sens, le protocole de purification retenu met en jeu une colonne de silice multicouches

neutre/acide/basique suivie d'une CPG, ces deux étapes ayant été optimisées. Une fois la méthode instrumentale et la stratégie de purification déterminées, la dernière étape du développement analytique consistait à sélectionner une méthode d'extraction robuste.

3.3. TECHNIQUE D'EXTRACTION

Le prétraitement des échantillons par lyophilisation, notamment celui des matrices solides, est une technique répandue dans la littérature pour l'analyse de POP et régulièrement mise en œuvre au LABERCA. La lyophilisation favorise l'extraction des analytes, donne accès au taux de matière sèche, assure également une meilleure homogénéité (après broyage) et améliore la conservation des échantillons. Elle nécessite néanmoins plusieurs jours pour une congélation préalable des échantillons avant sublimation de l'eau sous vide.

En se basant sur la littérature, à partir du lyophilisat, différentes méthodes d'extraction peuvent être utilisées, parmi lesquelles la méthode Soxhlet et l'extraction par solvant pressurisé à haute température (PLE). La première technique a rapidement été écartée car considérée comme longue et coûteuse (en temps et en solvant). La deuxième est considérée comme plus efficace, permettant, sur matrice sèche, une meilleure interaction du solvant avec la matrice. Ainsi, nous avons investigué uniquement la PLE comme technique d'extraction. Le système PLE utilisée est un Speed Extractor E-914 (Büchi), comportant 4 voies parallèles.

Les principaux paramètres qui influencent l'efficacité de l'extraction par PLE sont la nature du solvant, la température, la pression, la durée et le nombre de cycles d'extraction. Par souci de simplicité, nous avons testé prioritairement les paramètres appliqués dans les méthodes LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 et LABERCA/DGAI/PCBNL-tma.2.02 (§ 3.1.), car ils ont été optimisés pour l'extraction de divers POP et ont démontré leur efficacité. Ces méthodes recourent à un mélange toluène/acétone 7:3 (v/v), une température de 120 °C et une pression de 100 bar (3 cycles de 22 min chacun). Un échantillon de poisson lyophilisé (~3 g, n=4) fortifié par les Dechloranes marqués (¹³C-*anti*-DP, ¹³C-*syn*-DP et ¹³C-Dec 602) a été extrait dans ces conditions, purifié et analysé. Les rendements d'extraction obtenus pour le protocole complet (**Figure 37**) ont été considérés comme satisfaisants (>60%). Les conditions initialement testées ayant donné satisfaction, la PLE a été retenue comme méthode d'extraction sans aucune modification. La matière grasse co-extraite peut facilement être mesurée par gravimétrie avant purification, ce qui permet d'exprimer la concentration sur la base du taux de lipides.

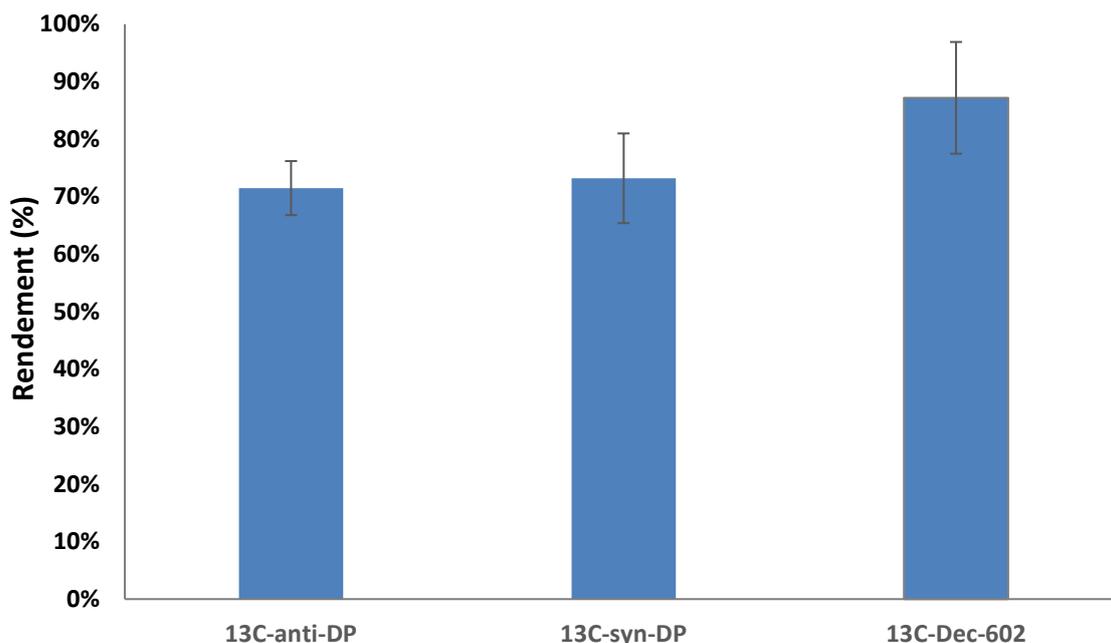


Figure 37 : Rendements d'extraction (n=4) obtenus par PLE pour les Dechloranes marqués suivant les conditions appliquées dans les méthodes LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 et LABERCA/DGAI/PCBNL-tma.2.02 pour l'analyse des PCDD/F, PCB, RF bromés et autres polluants environnementaux au LABERCA dans les matrices alimentaires.

L'ensemble de la stratégie de préparation de l'échantillon et d'analyse instrumentale ayant désormais été déterminée, nous avons souhaité revenir sur la question de la contamination procédurale précédemment soulevée (§ 3.2.1.2). Notre travail portant sur des contaminants de l'environnement, chaque intrant de la procédure (solvants, verreries, systèmes d'évaporation, surfaces de contact, etc.) est considéré comme source potentielle de contamination qu'il convient de minimiser et maîtriser afin de ne pas impacter les performances de la méthode, en particulier la justesse de la mesure. Nous avons alors entrepris d'étudier les éventuelles sources de contamination procédurale du protocole développé.

3.4. SOURCES DE CONTAMINATION PROCÉDURALE

La question de la contamination procédurale est souvent négligée dans la littérature relative aux contaminants de l'environnement. Des études récentes affichent toutefois clairement des niveaux (traces) de contamination procédurale en *anti*-DP, en *syn*-DP et en Dec-602 (Shen et al., 2011b, 2012 ; Sun et al., 2012 ; Kim et al., 2016). Cette contamination procédurale se réfère à la détection de composés d'intérêt provenant non pas de l'échantillon mais de l'environnement lié à l'analyse. La contamination procédurale peut avoir une influence

négligable sur la sensibilité de l'analyse et sur la fiabilité des résultats obtenus (identification de composés alors qu'ils sont absents de l'échantillon par exemple). Cette contamination peut intervenir au cours de l'échantillonnage, de la préparation de l'échantillon (lyophilisation, extraction, purification, concentration, etc.) et/ou de l'analyse.

La recherche constante de limitation de la contamination procédurale a occupé une part importante du travail de cette étude. Cela a nécessité d'accumuler des connaissances sur les différentes sources de contamination et d'appliquer de nouvelles précautions en conséquence, additionnelles aux précautions usuelles prises au LABERCA pour de nombreux contaminants environnementaux (RF bromés, phtalates, ...) telles que le passage de la verrerie (ballons, pipettes, vials, béchers, ...) à l'étuve (400 °C, 4 h) juste avant utilisation avec prélavage au dichlorométhane.

Un ensemble de blancs de procédure (sans matrice, préparés et analysés de la même manière qu'un échantillon), ciblant différentes parties de la méthode développée a été opérée pour identifier les éventuelles sources de contamination procédurale et, le cas échéant, caractériser les niveaux :

- Pour les systèmes d'évaporation, des volumes de *n*-hexane ont été évaporés et analysés en utilisant deux systèmes, rotatif sous vide ($V=100$ mL, $n=4$) et à flux d'azote ($V=5$ mL, $n=6$), avec et sans lavage avec DCM et acétone, respectivement.
- Pour les solvants, des volumes croissants ($V_1=120$ mL, $V_2=3 V_1$ et $V_3=5 V_1$) d'un mélange de toluène/acétone (7:3, v/v) ont été concentrés et analysés.
- Pour la PLE, une extraction par chacune des 4 voies du système Büchi, avec et sans un cycle de prélavage des cellules d'extractions, a été réalisée.
- Pour la silice, des volumes de *n*-hexanes ($V=100$ mL) avec ($n=2$) et sans ($n=2$) passage sur colonne, ont été concentrés et analysés.

L'ensemble des blancs de procédure testés dans cette partie a été analysé par GC-EI-MS/MS (test réalisé avant le transfert de la méthode de détection de la basse vers haute résolution). A noter que pour chaque paramètre étudié, il y a un cumul de nombreuses sources de contamination provenant de la suite des étapes du protocole. En ce sens, il est important de pouvoir comparer avec un contrôle excluant un maximum de sources quoi qu'il demeure tout de même souvent délicat de conclure avec certitude quant à l'origine de la contamination majeure.

Le Dec-601, le Dec-603 et le CP n'ont été détecté dans aucun des blancs (**Tableau 15**). Des quantités moyennes d'*anti*-DP, de *syn*-DP et de Dec-602 ont été détectées à des niveaux qui varient entre 35,6 et 611 pg, entre 44,1 et 839 pg et entre 10,0 et 16,6 pg, respectivement. La contamination en *anti*-DP, *syn*-DP et Dec-602 était minimale dans le cas de l'évaluation des systèmes d'évaporation, des solvants (malgré les différents volume), des voies 1 et 2 de la PLE et de la silice. En revanche, une importante contamination a été observée lorsqu'il s'agissait d'une extraction *via* les voies 3 et 4 du système PLE.

Tableau 15 : Quantités de Dechloranes (pg) détectés dans les blancs de procédure.

Test de contamination procédurale		Nombre de répliquâts	Quantité (pg)		
			<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	Dec-602
Système d'évaporation	Évaporateur rotatif	4	39,7 ± 1,67	52,2 ± 4,01	12,7 ± 0,35
	Évaporateur sous azote	6	42,8 ± 3,63	52,2 ± 3,68	12,7 ± 1,47
Solvant	V1	1	38,4	56,7	11,2
	V2	1	43,5	58,9	13,2
	V3	1	42,9	54,4	13,0
Prélavage des cellules du PLE (voie 1)	Avec prélavage des cellules d'extraction	2	53,4 ± 16,4	80,8 ± 25,2	10,0 ± 3,0
	Sans prélavage des cellules d'extraction	2	88,2 ± 13,9	169,1 ± 5,0	10,5 ± 0,5
PLE	Voie 1	2	69,1 ± 9,5	103 ± 26,0	14,2 ± 3,5
	Voie 2	2	62,9 ± 5,3	94,3 ± 26,5	16,6 ± 3,2
	Voie 3	2	611 ± 582	839 ± 726	15,0 ± 3,8
	Voie 4	2	498 ± 31,5	797 ± 267	15,5 ± 2,5
Silice	Avec passage sur silice	2	37,2 ± 1,1	44,1 ± 0,6	12,0 ± 0,4
	Sans passage sur silice	2	35,6 ± 1,7	48,8 ± 0,04	11,1 ± 1,8

Alors, d'après les résultats obtenus et l'objectif principal fixé, nous avons pu proposer des précautions efficaces pour réduire sensiblement la contamination globale et la maîtriser au maximum :

- Nettoyage quotidien des aiguilles de l'évaporateur à flux d'azote aux ultrasons dans l'acétone ;
- Utilisation des voies 1 et 2 de l'instrument PLE ;
- Prélavage des cellules d'extraction (1 cycle PLE) avant introduction de l'échantillon.

3.5. CONCLUSION ET MÉTHODE D'ANALYSE FINALISÉE

Notre stratégie analytique initiale nous a tout d'abord conduit à cibler un nombre de 6 molécules d'intérêt et à privilégier la mise au point d'une méthode analytique basée sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Chapitre 2). La préparation de l'échantillon est une étape également cruciale, qui conditionne en grande partie les performances et la fiabilité des méthodes analytiques. La préparation des échantillons implique à la fois l'extraction des Dechloranes des matrices et la purification des extraits correspondants. Notre travail a notamment consisté à déterminer la méthode d'extraction et de purification la plus efficace, qui présente les meilleurs taux de rendement. Un effort a également été fait pour optimiser la méthode dans le sens d'une minimisation des volumes de solvants, ce qui diminue le temps de traitement de l'échantillon et est plus favorable au concept de chimie verte.

La tentative d'intégrer les DPs à un squelette analytique pré-existant de purification de composés présentant des propriétés physico-chimiques proches ne s'étant pas révélée possible, un développement spécifique a été entrepris. Des colonnes manuelles d'extraction sur phase solide impliquant de la silice neutre, acide et basique, du Florisil[®], ainsi que la CPG ont été testées, éventuellement optimisées et comparées.

A l'issue de ce processus, la **Figure 38** décrit le protocole analytique tel que finalisé au cours de ce Chapitre 3 et d'ores et déjà éprouvé sur différents types de matrices biologiques complexes (huile de poisson, fruits de mer, œuf, foie, viande). L'équivalent d'environ 10 g d'échantillon, sous forme lyophilisée, est extrait par PLE, purifié sur une colonne de silice multicouches (acides, neutre et basique) puis par CPG. Les extraits sont concentrés et repris dans du toluène, puis analysés par GC-EI-HRMS.

Nous avons également identifié une problématique de contamination procédurale, que nous avons investigué plus avant afin de la réduire au mieux avec une variabilité acceptable. Nous avons proposé des précautions spécifiques supplémentaires aux précautions usuelles utilisées pour les RF bromés et d'autres contaminants environnementaux. Pour parvenir à une quantification la plus juste possible, nous avons envisagé l'introduction systématique d'au moins un blanc analytique dans chaque série d'analyse au cours des campagnes d'analyse d'échantillons environnementaux et alimentaires, ceci afin d'évaluer une moyenne et un écart-type pour chaque analyte concerné (*anti-DP*, *syn-DP* et parfois Dec-602).

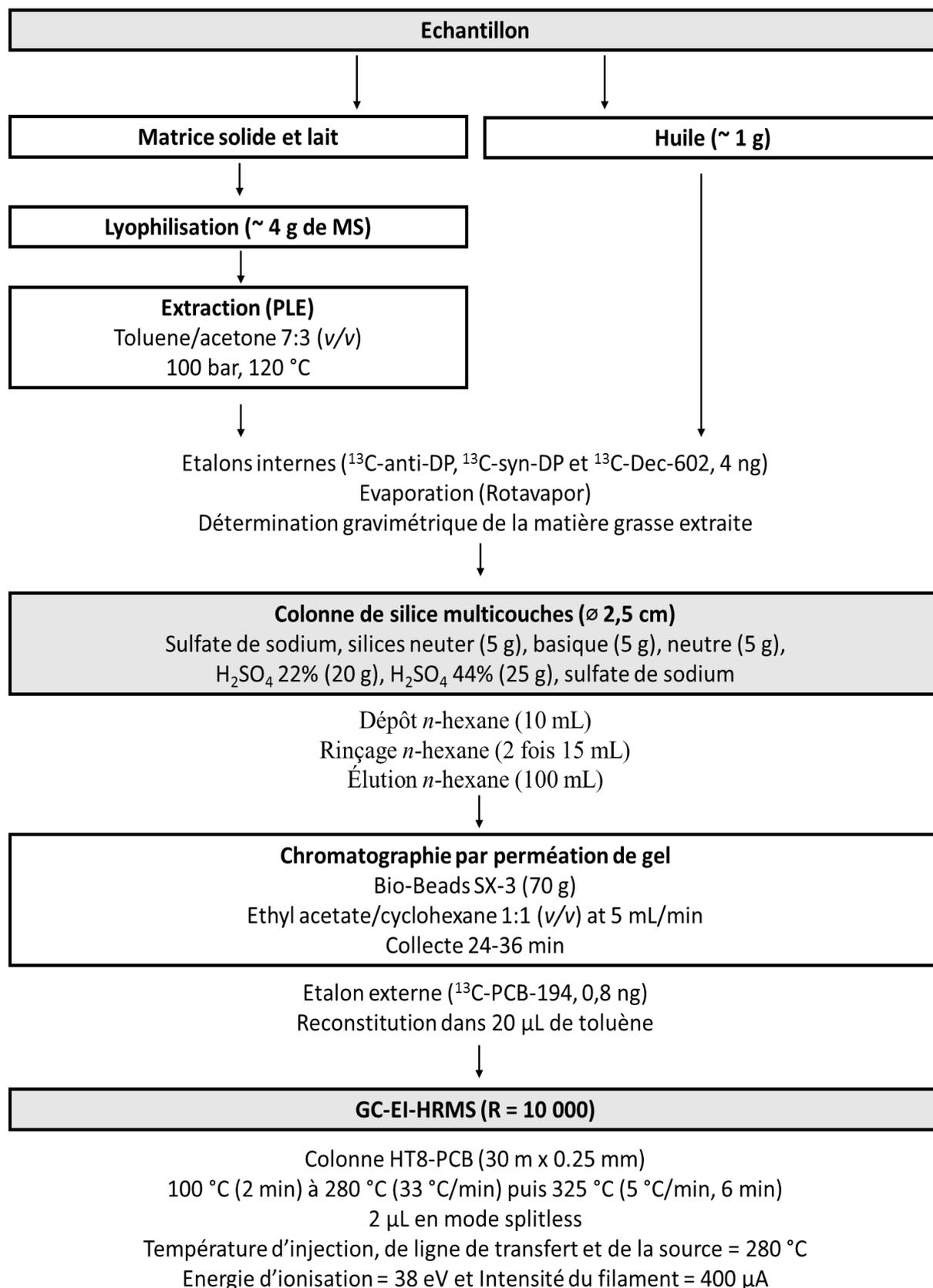


Figure 38 : Schéma du protocole analytique optimisé et finalisé pour l'analyse des Dechloranes.

A ce stade du projet, nous disposons ainsi d'une méthode d'analyse des Dechloranes à l'état de traces dans des matrices biologiques complexes. Le quatrième et dernier chapitre du manuscrit décrit l'application de cette méthode à plusieurs jeux d'échantillons en vue de répondre à la question ultime qui était de contribuer à l'évaluation de la contamination environnementale et de l'exposition alimentaire de l'homme aux Dechloranes. Plus précisément, après évaluation des critères de performance analytiques, les résultats d'analyses de poissons d'eau douce pêchés en France et d'aliments issus de France, du Liban et d'Afrique subsaharienne sont détaillés et discutés.

CHAPITRE 4

PERFORMANCES ANALYTIQUES, CONTAMINATION ENVIRONNEMENTALE ET EXPOSITION ALIMENTAIRE

Dans le cadre du présent travail, nous avons mené, entre 2016 et 2018, cinq campagnes d'analyse de poisson et d'aliments pour un total de 378 échantillons.

Dans la première section (§ 4.1.), nous exposons les principaux critères de performance de la méthode mise au point (§2 et §3) dans le cadre de ce travail de doctorat. Classiquement, des blancs de procédure (n=35) et des échantillons utilisés comme points de contrôle qualité (QC, n=27, fortifiés ou non) ont été introduits régulièrement dans les séries d'analyse successives. Ceux-ci ont permis d'évaluer de façon continue les performances de la méthode, notamment en termes de justesse et de fidélité, composantes de l'exactitude.

Nous présentons ensuite les résultats obtenus relatifs à la mesure des Dechloranes au cours des différentes campagnes d'analyse, en vue d'atteindre l'objectif final de l'étude qu'est la contribution à l'évaluation de l'exposition environnementale (sélection de poissons d'eau douce en France, § 4.2.) et alimentaire (sélections de produits alimentaires en France, au Liban et en Afrique subsaharienne, § 4.3.) aux Dechloranes. Dans le cas des aliments, les niveaux de contamination observés ont été exploités pour estimer l'exposition alimentaire des populations concernées, suivant deux scénarios visant à encadrer les quantités ingérées réelles.

4.1. PERFORMANCES DE LA MÉTHODE

Après étude de la contamination procédurale associée au protocole optimisé et vérification que les niveaux de sensibilité étaient compatibles avec nos cibles quantitatives (valeur réduite et constante), telles que décrites au chapitre précédent, nous avons entrepris d'évaluer les principaux critères de performance de la méthode afin de définir précisément son domaine d'applicabilité.

4.1.1. COURBES D'ÉTALONNAGE

Une courbe d'étalonnage, telle que décrite au § 2.2.4, a été réalisée à chaque campagne d'analyse. Après un nombre défini d'échantillons analysés (10 à 15), un point de calibration a systématiquement été re-injecté pour vérifier le maintien des performances instrumentales au cours de la séquence. Pour chaque campagne, les RRF obtenus pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP, le Dec-601, le Dec-602, le Dec-603 et le CP sont restés conformes à ce qui était attendu (proche de 1 pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-602, écart-type <20%) (2017/771/EC) (**Tableau 16**). Une légère dérive a parfois pu être observée d'une séquence à l'autre, mais dans des proportions acceptables. Une forte dérive a cependant été observée pour le Dec-603 entre la campagne n°1

et les suivantes, ce qui peut être dû au réglage de l'appareil le jour de la première séquence. Cette valeur remarquable de RRF de la campagne n°1 n'impact toutefois pas la quantification des échantillons de cette campagne puisque les injections ont été réalisées avec le même réglage et en même temps.

Tableau 16 : RRF moyens (\pm CV) obtenus au cours des différentes campagnes d'analyse (n=5).

Campagne	<i>anti-DP</i>	<i>syn-DP</i>	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP
n°1	1,26 \pm 7%	1,21 \pm 9%	0,88 \pm 16%	1,05 \pm 6%	2,37 \pm 12%	0,71 \pm 4%
n°2	1,21 \pm 10%	1,16 \pm 6%	0,87 \pm 7%	0,98 \pm 7%	0,53 \pm 7%	0,55 \pm 9%
n°3	1,19 \pm 4%	1,18 \pm 2%	0,94 \pm 5%	1,06 \pm 2%	0,63 \pm 8%	0,60 \pm 6%
n°4	1,01 \pm 2%	1,02 \pm 1%	0,68 \pm 13%	0,90 \pm 2%	0,72 \pm 2%	0,52 \pm 6%
n°5	0,99 \pm 8%	0,99 \pm 8%	0,70 \pm 16%	0,90 \pm 5%	0,50 \pm 13%	0,50 \pm 7%

4.1.2. RENDEMENTS D'EXTRACTION

La courbe d'étalonnage permet également de calculer le RRF entre chaque étalon interne et l'étalon externe. Dès lors, connaissant les niveaux de fortification de ces composés, il est possible d'évaluer le taux de recouvrement pour chaque extrait. Les taux de recouvrements du ^{13}C -*anti-DP*, du ^{13}C -*syn-DP* et du ^{13}C -Dec-602 obtenus lors des différentes campagnes d'analyses sont égales à $59 \pm 26\%$, $72 \pm 28\%$ et $82 \pm 21\%$, respectivement. Ils se situent majoritairement au-dessus de 60% ce qui est considéré comme satisfaisant au regard de l'objectif initial. Nous avons toléré des rendements inférieurs à 60% car, dans le cas de la dilution isotopique, la justesse du résultat de quantification ne souffre pas d'une faible valeur, si ce n'est de la perte de sensibilité associée.

4.1.3. SEUILS DE SENSIBILITÉ

La sensibilité d'une méthode se réfère au seuil à partir duquel un résultat peut être rendu avec un niveau suffisant de certitude. Usuellement, ce seuil dépend du rapport signal/bruit qui définit une limite de quantification (LOQ). La situation est plus complexe en cas de contamination procédurale. Dans ce cas, le résultat exprimé doit être statistiquement supérieur au niveau observé de contamination procédurale. Ci-après, nous décrivons les seuils déterminés pour les différentes campagnes d'analyse en fonction de l'absence ou de la présence de contamination procédurale. Dans notre étude, les seuils de sensibilité calculés sont exprimés en quantité (pg).

4.1.3.1. Limites de quantification

Selon le Règlement Européen 2017/771 concernant les méthodes de détermination des teneurs en PCDD/F et en PCB, la limite de quantification (LOQ) d'un congénère peut être définie comme correspondant à la concentration d'un analyte dans l'extrait d'un échantillon qui produit une réponse instrumentale *via* le suivi de deux ions avec un rapport signal/bruit de 3:1 pour le signal brut le moins intense. Nous nous sommes basés sur ce règlement en exprimant la LOQ comme une quantité (en pg) par prise d'essai. En pratique, selon la campagne, nous avons calculé la LOQ de différentes manières :

- Pour les campagnes n°1 et 3, qui concernent uniquement du muscle de silure, nous avons considéré une LOQ consensuelle correspondant à la moyenne des LOQ de l'ensemble des échantillons analysés présentant un rapport signal/bruit proche de 3:1. Le choix d'utiliser une moyenne de LOQ a été fait en vue de simplifier le tableau de résultats dans la mesure où, pour ces campagnes d'échantillons, nous avons analysé une unique espèce de poisson (**Tableau 17**).

Tableau 17 : LOQ consensuelles obtenues pour les Dechloranes (pg) au cours des campagnes n°1 et 3.

Campagne	<i>anti-DP</i>	<i>syn-DP</i>	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP
n°1	9,76	11,2	15,2	1,37	6,13	2,05
n°3	4,39	3,64	4,63	0,25	1,74	0,45

- Pour la campagne n°2, qui concerne différents types de DAOA, nous avons considéré une LOQ consensuelle moyenne pour chaque type de matrice. Ces LOQ varient, selon le type de matrice, entre 3,19 et 18,97 pg pour le Dec-601, entre 1,60 et 12,0 pg pour le Dec-603 et entre 1,11 et 33,3 pg pour le CP.
- Pour les campagnes n°4 et 5, qui concernent des DAOA et des huiles végétales, nous avons individualisé la LOQ pour chaque échantillon. Ces LOQ varient selon le type de matrice, entre 1,06 et 14,53 pg pour le Dec-601, entre 1,26 et 24,69 pg pour le Dec-603 et entre 0,13 et 1,60 pg pour le CP (**Tableau 18**).

Tableau 18 : LOQ obtenues pour les Dechloranes (pg) au cours des campagnes n°4 et 5.

Campagne	Paramètre	<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP
n°4	Minimum	0,81	0,82	1,22	0,16	1,26	0,27
	Moyenne ± écart-type	2,47 ± 1,78	2,19 ± 1,26	3,23 ± 1,87	0,34 ± 0,13	2,63 ± 2,30	0,59 ± 0,22
	Maximum	13,96	9,84	14,53	0,82	18,78	1,41
n°5	Minimum	0,83	0,67	1,06	0,07	1,33	0,13
	Moyenne ± écart-type	2,94 ± 2,29	2,43 ± 1,76	3,73 ± 2,50	0,26 ± 0,19	4,86 ± 3,63	0,48 ± 0,35
	Maximum	11,85	8,18	11,56	0,88	24,69	1,60

4.1.3.2. Blancs de procédure et limites de report

Comme exposé précédemment, l'occurrence d'une contamination procédurale implique une augmentation de l'incertitude de mesure à basse concentration. Une de nos préoccupations était de minimiser et stabiliser les niveaux de contaminations procédurale, à défaut de pouvoir les éliminer. Afin de caractériser l'apparition d'une contamination au cours de la procédure, nous avons systématiquement introduit un blanc de procédure pour chaque série de 10 échantillons, soit un total de 35 essais. Ce blanc subit la même procédure qu'un échantillon, de la PLE jusqu'à l'injection, étalons internes et externe inclus. La réalisation de ce blanc de manipulation permet d'évaluer et de corriger les contaminations apportées par les solvants, les phases, les surfaces et dépôts de poussières ; son analyse permet ainsi de déterminer à un instant t le niveau de contamination procédural associé à la série d'analyses concernée.

Le **Tableau 19** regroupe les niveaux de contamination procédurale quantifiés au cours des campagnes successives. Comme constaté lors de la phase de développement analytique, trois composés étaient principalement concernés par le phénomène (*anti*-DP, *syn*-DP et Dec-602). La contamination procédurale en Dec-602 semble désormais quasiment éliminée, les niveaux résiduels parfois observés restant très proches des LOQ. Concernant le DP, une nette décroissance a eu lieu entre les campagnes n°1 et 4, témoignant d'une expertise technique croissante de l'opératrice. En revanche, les niveaux sont revenus à un niveau élevé lors de la campagne n°5, avec une certaine variabilité détaillée dans le même tableau. Cette variation dans les niveaux pourrait être due à un changement d'opérateur et une moindre maîtrise du protocole et des précautions associées.

Tableau 19 : Contamination procédurale moyenne \pm écart-type (pg) observée pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-602 au cours des cinq campagnes d'analyse.

Campagne	Répliquâts	<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	Dec-602
n°1	8	38,4 \pm 27,4	40,6 \pm 30,7	-
n°2	9	17,2 \pm 14,9	16,4 \pm 13,2	0,28 \pm 0,57
n°3	8	8,4 \pm 4,8	10,8 \pm 6,2	-
n°4	6	4,0 \pm 1,8	9,6 \pm 4,5	2,5 \pm 2,2
n°5 (détail des 4 blancs)	1	21,7	43,2	1,5
	1	34,0	66,2	-
	1	37,5	54,3	-
	1	4,1	10,3	-

En conséquence de cette contamination faible mais significative, nous avons introduit une limite de performance connue sous le nom de *limit of reporting* (LoR, limite de report). Nous avons défini cette limite comme étant la valeur de la moyenne d'un composé d'intérêt dans les blancs de procédure plus trois fois l'écart-type associé. Nous avons alors considéré qu'au-delà de la LoR, le niveau brut mesuré dans un échantillon était significativement différent de la contamination procédurale, donc que l'échantillon était intrinsèquement contaminé.

En conclusion, concernant les performances de sensibilité de la méthode, les limites atteintes sont de l'ordre de quelques pg par prise d'essai. Sachant que ces prises correspondent généralement à plusieurs grammes de poids frais, les sensibilités atteintes sont tout à fait satisfaisantes au regard de la littérature et des seuils requis pour produire des données de contamination exploitables.

4.1.4. CALIBRATION INTERNE

Usuellement l'évaluation et le maintien des performances de justesse et de fidélité d'une méthode sont assurés au travers deux types de contrôles. D'une part, un échantillon dit de contrôle qualité (QC) connu et soigneusement choisi pour refléter le domaine d'application est régulièrement analysé pour détecter et prévenir toute dérive à l'aide d'une carte de contrôle. D'autre part, la participation à des essais inter-laboratoires permet d'assurer une calibration externe et de se situer par rapport à une valeur certifiée ou, à défaut, une valeur consensuelle.

4.1.4.1. Echantillons de contrôle qualité

Plusieurs échantillons de QC ont été préparés et analysés au cours des campagnes d'analyse. Ils ont servi à la fois à l'évaluation des performances de la méthode (validation partielle) et à déterminer la validité des séries au sein desquelles ils étaient introduits.

Dans le cas de la campagne n°1, le QC utilisé a été préparé à partir d'un mélange de muscles lyophilisés de 45 silures naturellement contaminés, avec une prise d'essais de 3 g de MS (code PS1, n=3 fois injecté dans la campagne n°1). Un autre échantillon de silure naturellement contaminé a été analysé 3 fois au cours de la campagne n°1 et une dernière fois au cours de la campagne n°4, avec une prise d'essai de 3 g de MS (code PS2, n=4). Pour les autres campagnes (campagne n°2, 3, 4 et 5), nous avons utilisé un échantillon d'huile de poisson utilisé dans le cadre des méthodes LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04 et LABERCA/DGAI/PCBN DL-tma.2.02. Nous l'avons utilisé sans modification (code QC, n=10) ou fortifié à 4 ng/g par les 6 Dechloranes natifs (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP) (code QCF, n=20), avec une prise d'essais de 1 g. Pour exemple, la **Figure 39** représente les cartes de contrôle obtenues pour les Dechloranes dans l'échantillon QCF au cours des campagnes d'analyse (campagne n°2, 3, 4 et 5). Dans le cas de l'*anti*-DP, du *syn*-DP, du Dec-602 et du CP, toutes les valeurs apparaissent comprises dans l'intervalle défini par la moyenne des mesures ± 3 écarts-types, avec $CV < 10\%$, et oscillent autour d'une valeur moyenne proche du niveau de fortification, ce qui montre que la méthode ne dérive pas. Cette distribution aléatoire autour de la moyenne peut être due à plusieurs facteurs, incluant l'homogénéité de l'échantillon et les incertitudes provenant de la préparation de l'échantillon et des facteurs de réponses. Dans le cas du Dec-601 et du Dec-603, le CV apparaît plus élevé, avec un décrochement entre les campagnes n°3 et n°4 pour le Dec-601, et une dérive pour le Dec-603.

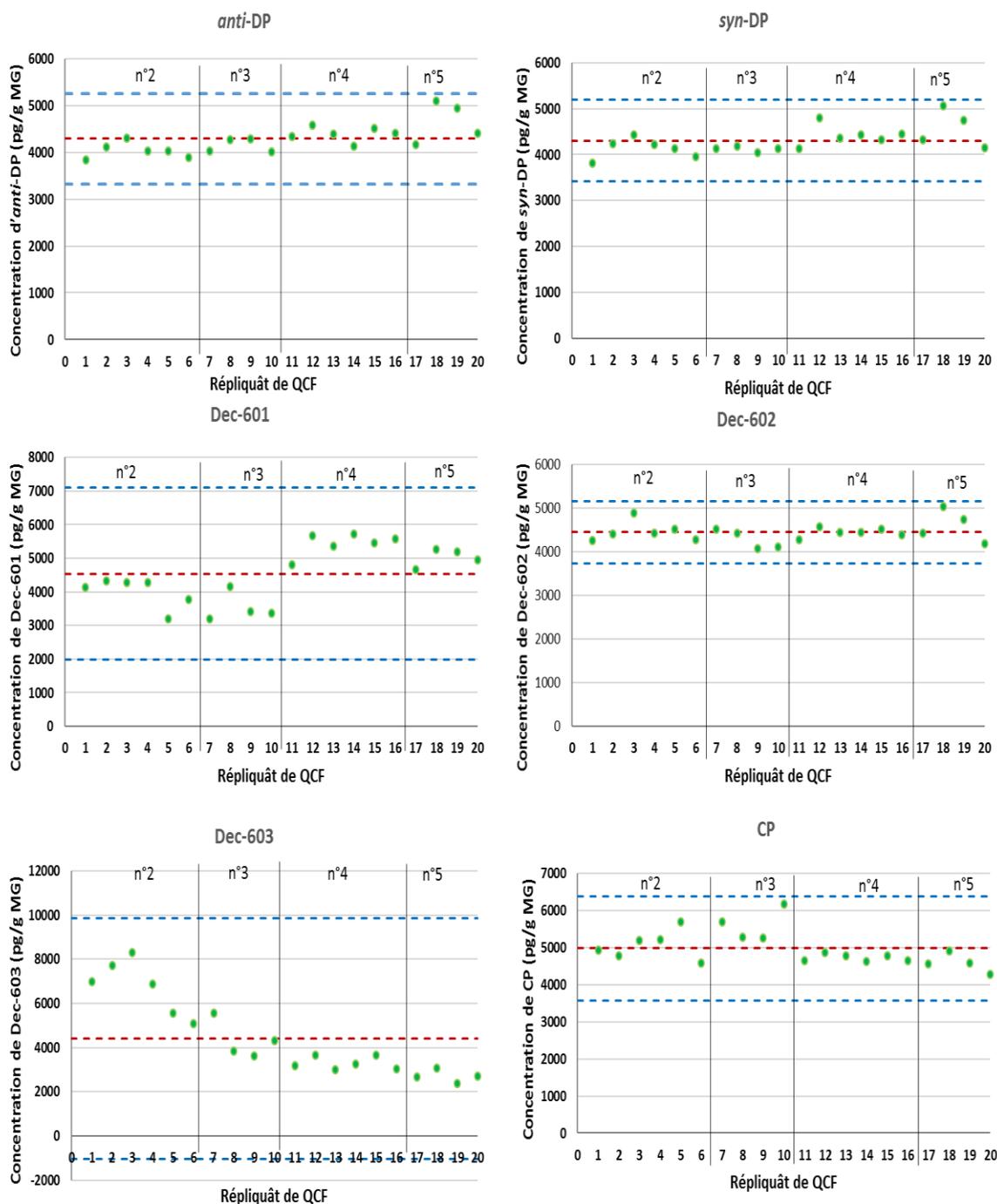


Figure 39 : Cartes de contrôle des Dechloranes quantifiés dans l'échantillon QCF (n=20) au cours des campagnes d'analyse n°2 à n°5. Rouge, moyenne ; bleu, moyenne \pm 3 écarts-types.

Selon la Décision 2002/657/CE relative aux performances des méthodes d'analyse et à l'interprétation des résultats, l'exactitude (*accuracy*) d'une méthode est définie comme l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'essai et la valeur de référence acceptée. Elle est déterminée par la justesse (*trueness*) et la fidélité (*precision*).

4.1.4.2. Justesse

La justesse est également définie dans la Décision 2002/657 comme correspondant à l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée. Elle est généralement exprimée en termes de biais. Le biais est défini par le Comité Commun pour les Guides en Métrologie (JCGM) au travers du guide JCGM 200:2012 « Vocabulaire International de Métrologie » comme étant une estimation d'une erreur systématique (erreur de justesse). Dans notre étude et à défaut de l'existence d'un matériau de référence certifié, la justesse a été évaluée par l'analyse récurrente d'échantillons d'huile de poisson non fortifiés (n=10, QC) et fortifiés (n=20, QCF). En effet, l'échantillon fortifié permet de s'affranchir des contaminations naturelle et procédurale par différence avec l'échantillon non fortifié. Nous avons calculé dans un premier temps le biais puis nous avons évalué la justesse en divisant la valeur de biais obtenue par $\sqrt{3}$ (selon la loi rectangulaire en statistique). Le **Tableau 20** reprend les résultats de quantification obtenus pour ces différents échantillons considérés comme un outil de contrôle qualité. Les justesses varient entre 4 et 14% selon le composé d'intérêt, s'avèrent inférieurs à 20%, ce qui les rend conformes à nos attentes selon les recommandations du règlement 2017/771/EC.

Tableau 20 : Valeurs de justesse estimées pour les 6 Dechloranes à partir des valeurs moyennes de quantification (pg/g MG) des échantillons QC (n=10) et QCF (n=20).

Composé	pg/g MG			Niveau de fortification	Biais	Justesse
	Moyenne des QCF	Moyenne des QC	Différence entre QCF et QC			
anti-DP	4288	20	4268	4000	0,067	4%
syn-DP	4300	9	4291	4000	0,073	4%
Dec-601	4539	<LOQ	4539	4000	0,135	8%
Dec-602	4445	81	4364	4000	0,091	5%
Dec-603	4420	13	4407	4000	0,102	6%
CP	4975	9	4966	4000	0,241	14%

4.1.4.3. Fidélité

La fidélité est définie comme étant l'étroitesse d'accord entre des résultats de tests indépendants obtenus dans des conditions stipulées (prédéterminées) (Décision 2002/657).

Nous avons exploité les résultats d'analyse des répliquats de PS1, PS2 et QCF pour estimer la fidélité intermédiaire. La fidélité intermédiaire est définie selon le guide JCGM 200:2012 comme étant la fidélité de mesure selon un ensemble de conditions qui comprennent la même procédure opératoire, le même lieu et des mesures répétées sur les mêmes objets ou des objets similaires pendant une période de temps étendue, mais peuvent comprendre d'autres conditions que l'on fait varier. Les répliquats QC ont été écartés de cette évaluation en raison des faibles niveaux de concentrations rencontrés (signaux proches du bruit du fond). Les valeurs obtenues pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP, le Dec-602 et le CP sont comprises entre 8 et 14% (fidélité intermédiaire attendue <15%, Règlement 2017/771/EC) (**Tableau 21**). En revanche, elles sont plus élevées pour le Dec-601 (19%) et surtout le Dec-603 (37%), ce qui peut être expliqué par le fait d'utiliser un étalon interne qui n'est pas un isotopologue, de fait moins bien adapté. Ces différences mettent en lumière à quel point il est important d'utiliser un étalon interne mimétique (molécule identique marquée) lorsque disponible. Ainsi, si ces résultats sont, dans l'ensemble, considérés satisfaisants et compatibles avec nos objectifs, il conviendra de garder à l'esprit que la fidélité est moins performante pour le Dec-603.

Tableau 21 : Valeurs de fidélité intermédiaire estimées pour les 6 Dechloranes à partir des valeurs de quantification des échantillons PS1 (n=3), PS2 (n=4) et QCF (n=20). CV, coefficient de variation.

Composé	PS1		PS2		QCF		Fidélité intermédiaire
	Moyenne (pg/g PF)	CV	Moyenne (pg/g PF)	CV	Moyenne (pg/g MG)	CV	
<i>anti</i> -DP	4	11%	24	22%	4288	8%	11%
<i>syn</i> -DP	4	10%	22	12%	4300	7%	8%
Dec-601	<LOQ	-	<LOQ	-	4539	19%	19%
Dec-602	6	7%	102	8%	4445	5%	8%
Dec-603	10	13%	256	9%	4420	41%	37%
CP	1	27%	15	23%	4975	9%	14%

Complémentairement à une évaluation et une surveillance internes continues des performances, il s'avère également nécessaire de les examiner dans le cadre d'essais inter-laboratoires tel que décrit ci-après.

4.1.5. CALIBRATION EXTERNE

Pour confirmer l'exactitude de la méthode, nous avons participé à un essai inter-laboratoire (EIL) organisé par le Laboratory Services Branch of Ministry Of the Environment (MoE, Ontario, Canada), le 11^{ème} round du Northern Contaminants Interlaboratory Quality Assurance Program (NCP III – Phase 11), dédié à l'analyse de contaminants de l'environnement (RF bromés, chlorés et organophosphorés, PCDD/F, PCB, pesticides organochlorés, substances poly- et perfluoroalkyles, naphthalènes polychlorés, paraffines chlorées, métaux) dans des solutions standards et 4 échantillons de muscle de poisson (**Tableau 22**). Pour les RF chlorés, nous avons analysés l'*anti*-DP, le *syn*-DP, le Dec-602, le Dec-603 et le Dec-604 selon la méthode finalisée décrite en conclusion du Chapitre 3.

Tableau 22 : Description des échantillons EIL.

Référence	Type	Forme	Remarque
NCP/AMAP-11-BFR/CFR-4	Mélange de standards	Solution (toluène)	
NCP/AMAP-11-S2	Tissu de poisson	Lyophilisat	Reference Material
NCP/AMAP-11-S3	Tissu de poisson	Lyophilisat	SRM NIST
NCP/AMAP-11-S8	Tissu de poisson	Lyophilisat	Naturellement contaminé
NCP/AMAP-11-S9	Tissu de poisson	Lyophilisat	Fortifié

En raison du nombre trop faible de résultats rendus par les participants (<10), l'organisateur n'a pas calculé les *z*-scores pour les Dechloranes. Néanmoins, il a communiqué les valeurs mesurées, assorties d'une valeur médiane et d'un CV lorsque possible.

Pour la solution standard, le DP a été analysé par 8 laboratoires, le Dec-602 et le Dec-604 par 5 et le Dec-603 par 3. Les valeurs de concentrations déterminées par notre laboratoire sont proches des médianes calculées par l'organisateur de l'essai et des valeurs théoriques. Malheureusement, pour les quatre échantillons de poissons, le DP n'a été analysé que par 5 laboratoires, tandis que les Dec-602, Dec-603 et Dec-604 uniquement par 3, avec majoritairement des niveaux non détectés, raison pour laquelle aucune médiane n'a pu être calculée (

Tableau 23). Nous n'avons ainsi pas pu exploiter les résultats pour ces 4 échantillons pour statuer sur nos performances. *A minima*, nous avons validé la préparation de nos solutions standards de travail.

Tableau 23 : Résultats de l'EIL pour la solution de standards NCP/AMAP-11-BFR/CFR-4. Concentrations en pg/μL pour la solution et en pg/g pour le poisson ; CV, coefficient de variation ; n.d., non détecté ; NC, non communiqué.

Echantillon ou solution		<i>anti-DP</i>	<i>syn-DP</i>	Dec-602	Dec-603	Dec-604
CFR-4	Notre résultat	190	154	84,5	90	84,9
	Valeur théorique	180	140	80	80	80
	Médiane	188	147	77,7	73,1	83,9
	CV	7,5%	16,5%	6,45%	8,1%	3,68%
	Participants	8	8	5	3	5
S2	Notre résultat	18,9	10,8	149	28	n.d.
	Médiane	NC	NC	NC	NC	NC
	CV	NC	NC	NC	NC	NC
	Participants	5	5	3	3	3
S3	Notre résultat	31,2	<3,00	14,3	9,74	n.d.
	Médiane	NC	NC	NC	NC	NC
	CV	NC	NC	NC	NC	NC
	Participants	5	5	3	3	3
S8	Notre résultat	299	127	8,46	n.d.	n.d.
	Médiane	331	172	NC	NC	NC
	CV	48%	68,1%	NC	NC	NC
	Participants	5	5	3	3	3
S9	Notre résultat	32,8	15,6	112	9,09	n.d.
	Médiane	NC	NC	NC	NC	NC
	CV	NC	NC	NC	NC	NC
	Participants	5	5	3	3	3

4.1.6. INCERTITUDE ÉLARGIE

Pour conclure quant aux performances de la méthode, à partir des calculs réalisés en calibration interne uniquement, une incertitude combinée (exactitude) a été calculée afin d'obtenir une distribution globale de toutes les valeurs. L'incertitude combinée (u) est associée à l'incertitude de la justesse (justesse) et l'incertitude de la fidélité (fidélité intermédiaire) suivant l'Équation 4.

$$u = \sqrt{(\text{incertitude de justesse}^2 + \text{incertitude de fidélité}^2)}$$

Équation 4 : Calcul de l'incertitude combinée (u).

Finalement, à partir de l'incertitude combinée, l'incertitude élargie (U) a été calculée pour déterminer la zone dite d'ultra confiance (intervalle de confiance de 95%, $k=2$ selon la loi de Student) (Équation 5).

$$U = 2 \times u$$

Équation 5 : Calcul de l'incertitude élargie (U).

Le **Tableau 24** reprend les résultats obtenus pour les incertitudes combinée et élargie au regard des différents composés. Pour l'incertitude élargie, les valeurs obtenues pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-602 sont comprises entre 19 et 23%, ce qui est jugé satisfaisant. La valeur est environ deux fois plus élevée pour le Dec-601 et le CP (40-41%), vraisemblablement en raison de l'indisponibilité commerciale d'étalons marqués mimétiques (isotopologues), ce qui reste acceptable. En revanche, elle est plus élevée pour le Dec-603 (75%), ce qu'il faudra prendre en considération lors de l'interprétation des résultats de contamination. D'après ces résultats, la méthode globale nous est apparue fidèle, exacte et en conséquence adaptée pour une application à des échantillons réels, avec cependant une certaine réserve pour le Dec-603.

Tableau 24 : Valeurs d'incertitude combinée et d'incertitude élargie estimées pour les 6 Dechloranes.

Composé	Justesse	Fidélité intermédiaire	Incertitude combinée (u)	Incertitude élargie (U)
<i>anti</i> -DP	4%	11%	12%	23%
<i>syn</i> -DP	4%	8%	9%	18%
Dec-601	8%	19%	21%	41%
Dec-602	5%	8%	9%	19%
Dec-603	6%	37%	37%	75%
CP	14%	14%	20%	40%

4.2. CONTAMINATION ENVIRONNEMENTALE

Parallèlement à l'évaluation de ses performances, le protocole analytique développé et optimisé dans cette étude a été appliqué à cinq jeux d'échantillons de poisson ($n=145$) et d'aliments ($n=233$), afin d'atteindre l'objectif ultime visant à contribuer à l'évaluation de la contamination environnementale et la caractérisation de l'exposition de l'homme aux Dechloranes. Cette

partie présente les résultats d'évaluation des niveaux de prévalence des Dechloranes dans des silures collectés dans différents sites en France.

4.2.1. SÉLECTION DES ÉCHANTILLONS

Les poissons sont utilisés pour surveiller la pollution des écosystèmes aquatiques. Ils constituent un lien essentiel qui lie le réseau aquatique à l'homme. Le muscle de poisson est une matrice de choix utilisée pour évaluer les niveaux de contamination environnementale en polluants présentant une forte tendance à la bioaccumulation. Face au manque manifeste de données françaises relatives aux Dechloranes, nous avons souhaité établir un premier état des lieux concernant les poissons de rivière en France. Notre objectif était ici de produire et d'analyser des données de prévalence des Dechloranes dans le filet d'une espèce de poisson de rivière, *Silurus spp.* (**Figure 40**), un genre de poissons d'eau douce de la famille des Siluridae. Le silure est omnivore, solitaire et vit en moyenne 20 ans, d'ordinaire dans les zones les plus profondes de son habitat. Ce genre est largement réparti sur le territoire français et connu comme fortement accumulateur de substances chimiques hydrophobes telles que les PCB (Afssa, 2008 ; Alomar et al., 2016 ; Squadrone et al., 2016).



Figure 40 : Représentation d'un silure.

Deux des 5 campagnes ont été dédiées à l'analyse de muscles de silures :

- La campagne n°1 a concerné 43 échantillons de silure collectés en 2014 dans deux rivières du sud de la France, la Dordogne (5 sites, n=20) et la Garonne (4 sites, n=23) (**Figure 41**). Dans le cadre d'une convention d'appui scientifique et technique avec l'Institut des Milieux Aquatiques (Bayonne), ces échantillons avaient préalablement été analysés pour les PCDD/F et les PCB.



Figure 41 : Localisation des sites de prélèvement des silures de la campagne d'analyse n°1 (fond de carte d'après <http://cartographie.nature33.fr/visualiseur/?idlyr=11519>).

- La campagne n°3 a concerné 102 échantillons de silure collectés durant les années 2008-2011 et 2014-2015 dans une vingtaine de rivières couvrant une grande partie du territoire métropolitain de France (**Figure 42**), dans le contexte d'un plan national. Ce plan visait à établir un diagnostic de contamination des poissons d'eau douce au regard d'autres classes de contaminants environnementaux tels que les PCDD/F, les PCB ou les RF bromés (Eau France, anciennement ONEMA, Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques). Les échantillons ont été sélectionnés parmi ceux conservés au sein du laboratoire d'accueil (LABERCA) et d'un laboratoire partenaire (IRSTEA, Lyon-Villeurbanne).

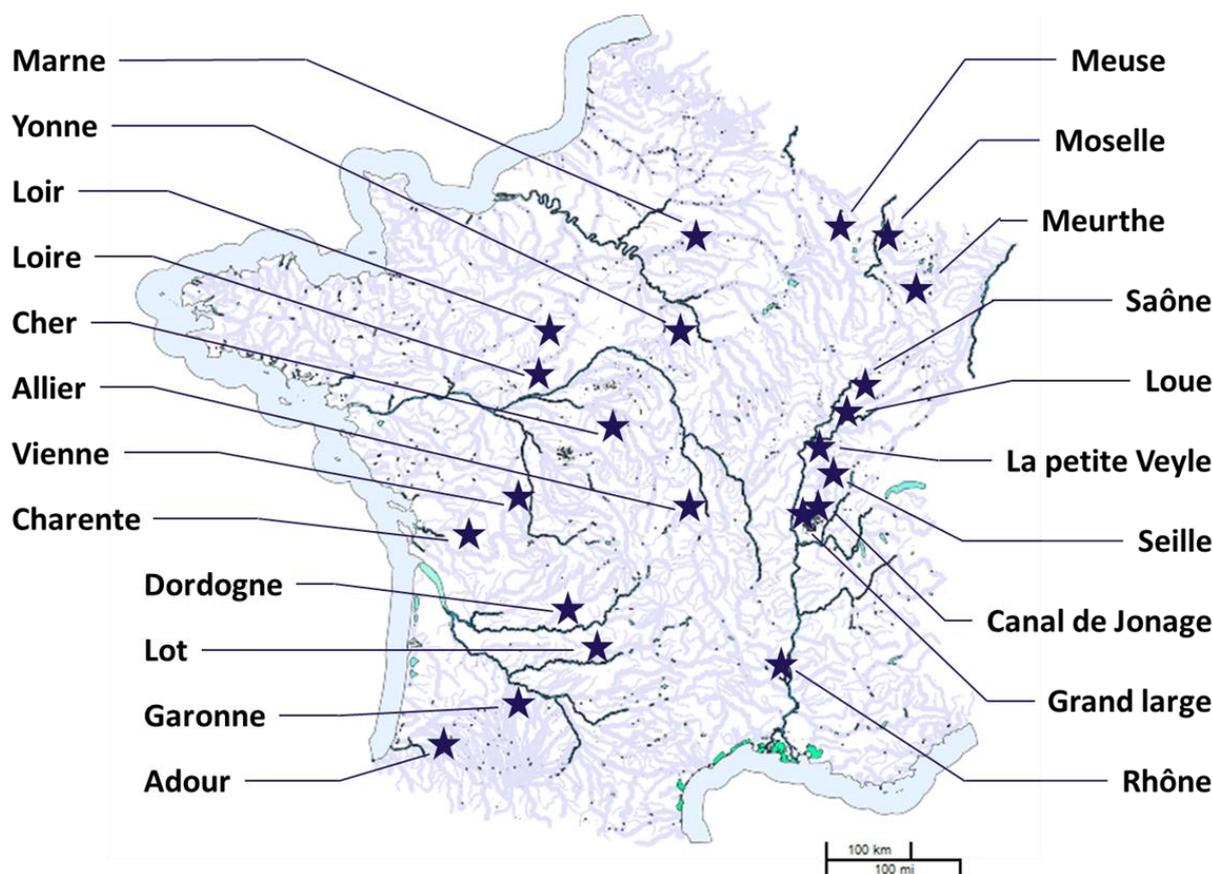


Figure 42 : Localisation des sites de prélèvement des silures de la campagne d'analyse n°3 (fond de carte d'après <http://cartographie.nature33.fr/visualiseur/?idlyr=11519>).

4.2.2. ASPECTS ANALYTIQUES SPÉCIFIQUES

4.2.2.1. Préparation de l'échantillon

Si la campagne n°3 a été réalisée conformément à la méthode finalisée (silice multicouches neutre/acide/basique et CPG, § 3.5.), il est à noter que la campagne n°1 a été réalisée antérieurement à cette finalisation. Ainsi, les échantillons ont été purifiés sur colonne de silice multicouche neutre/acide suivie d'un partage liquide-liquide *n*-hexane/NaOH 1 N, sans CPG). L'effet de matrice qui avait été observé sur farine de poisson (§ 3.2.2.3) en l'absence de CPG a été observé dans une moindre mesure sur le muscle de silure.

4.2.2.2. Seuils de sensibilité

Afin de faciliter l'interprétation des résultats, certains ajustements ont dû être réalisés et sont disponibles en Annexe 1.

4.2.2.3. Scénarios lowerbound et upperbound

Dans de nombreuses études disponibles concernant des contaminants de l'environnement à l'état de traces, les résultats sont exprimés entre une estimation basse (lowerbound, LB) et une estimation haute (upperbound, UB). Selon le Règlement européen 2017/771, l'estimation UB est une valeur calculée sur la base d'une contribution de chaque composé non quantifié égale à la limite de performance (LOQ), alors que l'estimation LB est une valeur établie sur la base d'une contribution de chaque composé non quantifié égale à zéro. Au-delà du seuil (LOQ et LoR), la valeur brute est conservée dans les deux scénarios **Figure 43a**. Cependant, dans le cas d'un composé à LoR (i.e. avec contamination procédurale), nous avons considéré qu'il était plus juste de soustraire la valeur de LoR dans le scénario LB, afin de prendre en compte la variabilité autour de ce biais (**Figure 43b**).

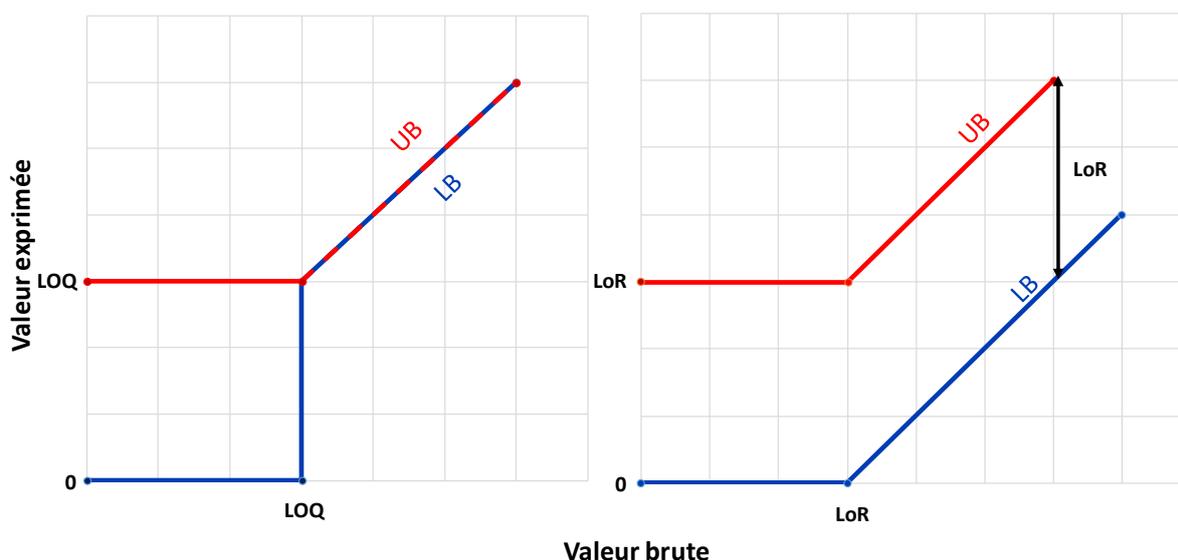


Figure 43 : Principes schématiques représentatifs des scénarios lowerbound (LB) et upperbound (UB). (a) Composés à LOQ ; (b) Composés à LoR.

4.2.3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

4.2.3.1. Silures de la Dordogne et la Garonne

4.2.3.1.1. Concentrations globales

Les résultats obtenus pour les échantillons de silures collectés en 2014 dans la Dordogne et la Garonne (campagne n°1) sont présentés **Tableau 25**. Au moins un composé ciblé a été identifié

et quantifié dans tous les échantillons, ce qui témoigne de la présence ubiquitaire de cette famille de contaminants en 2014 dans les deux bassins versants investigués.

Dans l'ensemble, le *syn*-DP a été détecté dans 14% des échantillons avec une moyenne comprise entre 2,60 (LB) et 9,87 (UB) pg/g PF (entre 0,34 (LB) et 2,16 (UB) ng/g MG) alors que l'*anti*-DP a été identifié dans 19% des échantillons avec une moyenne comprise entre 5,76 (LB) et 12,02 (UB) pg/g PF (entre 0,76 (LB) et 2,35 (UB) ng/g MG).

Les niveaux de Dechloranes détectés sont très faibles par rapport à ceux décrits pour les pays asiatiques et à proximité des zones industrielles (ordre de quelques dizaines à centaines de ng/g PF) alors qu'ils sont du même ordre de grandeur (pg/g PF à quelques ng/g PF) que ceux qui ont été rapportés pour des zones rurales et/ou des pays éloignés de sites de production de ces composés et de sites de recyclage de déchets électroniques (surtout l'Europe). Ainsi, ces résultats corroborent l'hypothèse selon laquelle les Dechloranes n'ont pas été utilisés largement autour des deux bassins versants investigués.

Le Dec-603 est le composé le plus fréquemment retrouvé (dans 100% des échantillons analysés). Sa concentration varie de 0,47 à 288 pg/g PF (de 0,05 à 8,23 ng/g MG) avec une moyenne et une médiane respectivement égales à 15,5 et 5,49 pg/g PF (1,74 et 1,15 ng/g MG). Nous avons également identifié le CP dans presque l'ensemble des échantillons (98%) à une concentration moyenne égale à 1,26 pg/g PF (0,21 ng/g MG) et le Dec-602 dans 95% des échantillons avec une moyenne de 6,69 pg/g PF (0,86 ng/g MG). Le Dec-601 n'a été détecté dans aucun des échantillons.

Tableau 25 : Données de contaminations (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les échantillons de silures de la campagne n°1 (n=43).

Rivière	Paramètres	<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ ₆ Dec
Dordogne (n=20)	Fréquence de détection	30%	25%	0%	95%	100%	95%	100%
	Minimum	<LoR	<LoR	-	<LOQ	0,47	<LOQ	6,58
	Moyenne (LB) ± écart-type	10,9 ± 21,2	4,5 ± 8,99	-	3,95 ± 3,57	6,16 ± 4,46	0,77 ± 0,44	26,4 ± 28,1
	Moyenne (UB) ± écart-type	16,6 ± 18,3	11,2 ± 5,75	-	3,96 ± 3,56	6,16 ± 4,46	0,78 ± 0,43	38,6 ± 22,3
	Médiane (LB)	-	-	-	2,98	4,86	0,70	13,6
	Médiane (UB)	8,04	8,85	-	2,98	4,86	0,70	27,3
	Maximum	67,5	31,7	-	15,2	15,2	1,63	104
Garonne (n=23)	Fréquence de détection	9%	4%	0%	96%	100%	100%	100%
	Minimum	<LoR	<LoR	-	<LOQ	1,62	0,21	3,7
	Moyenne (LB) ± écart-type	1,26 ± 4,47	0,93 ± 4,45	-	9,07 ± 19,3	23,7 ± 58,5	1,69 ± 2,87	36,7 ± 88,8
	Moyenne (UB) ± écart-type	8,60 ± 2,46	9,39 ± 2,60	-	9,07 ± 19,3	23,7 ± 58,5	1,69 ± 2,87	52,4 ± 85,5
	Médiane (LB)	-	-	-	3,90	8,75	0,79	14,8
	Médiane (UB)	8,04	8,85	-	3,90	8,75	0,79	30,2
	Maximum	19,9	21,3	-	95,0	288	14,3	438

4.2.3.1.2. Concentrations mesurées par site

D'après les résultats de prévalence, les deux rivières semblent présenter une pression anthropique similaire et relativement faible. Les concentrations médianes en Dechloranes rapportés dans les échantillons collectés dans la Dordogne sont inférieures de ceux de la Garonne (**Figure 44**). Néanmoins, les profils médians observés en LB ainsi que ceux en UB dans les deux rivières restent similaires, avec une dominance en Dec-602 et en Dec-603 dans le premier scénario et en DP et Dec-603 dans le deuxième scénario.

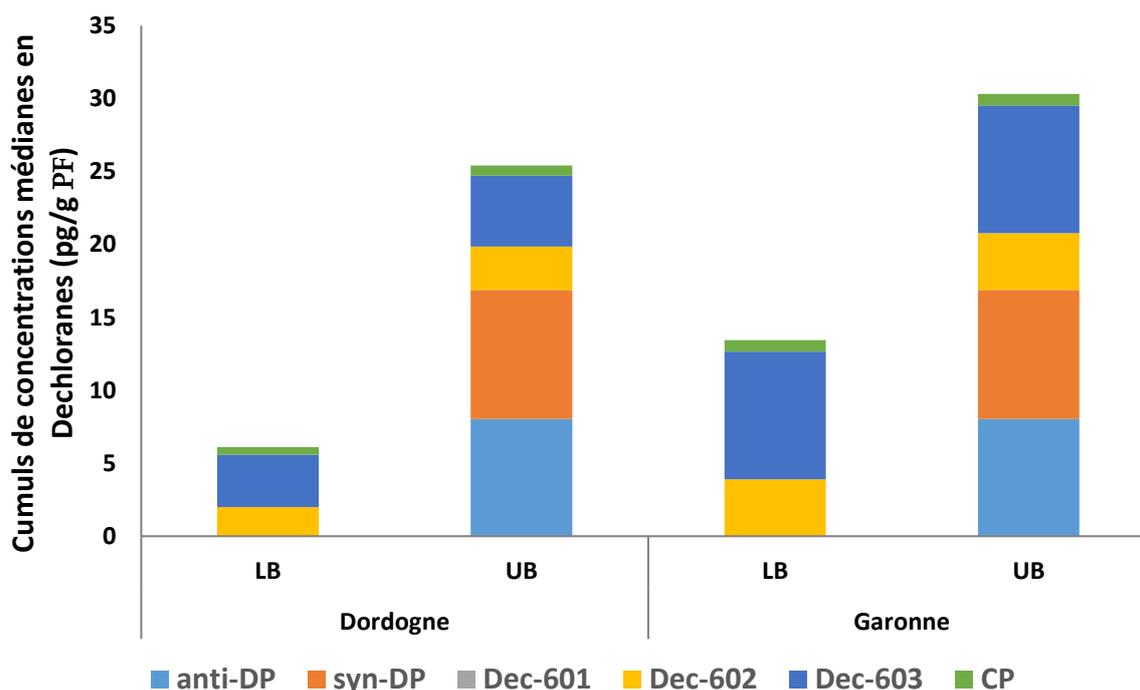


Figure 44 : Cumuls de concentrations médianes en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/g PF, scénario LB et UB) pour les échantillons de la Dordogne et la Garonne de la campagne d'analyse n°1.

Au regard de position du site de prélèvement, aucune tendance significative (concentration et profil) ne semble se dégager le long des deux cours d'eau (en amont et en aval des rivières) (**Figure 45**).

Pour les échantillons les plus contaminés de la Dordogne, l'*anti-DP* est le composé majoritaire alors que pour ceux de la Garonne, c'est le Dec-603. Cette observation apparaît en contradiction avec la littérature qui ne considère pas le Dec-603 comme un composé majoritaire des zones géographiques étudiées (Santín et al., 2013 ; Rjabova et al., 2016 ; Von Eyken et al., 2016 ; Giulivo et al., 2017 ; Zacs et al., 2018). A noter cependant qu'une concordance des profils existe entre les échantillons de la Garonne de notre étude et ceux de l'étude de Lauzent et al. (2017)

prélevés deux ans plus tôt dans le même fleuve et où le Dec-603 est le composé majoritaire (niveaux plus élevés que le DP). Cette cohérence est favorable à l'hypothèse d'une signature de pollution spécifique à la Garonne plus qu'à un biais analytique lié à la moins bonne incertitude atteinte pour le Dec-603.

Un seul échantillon de poisson, provenant de la Garonne, présentait un niveau de Dechloranes relativement élevé à 438,2 pg/g PF (**Figure 45**). Ce poisson présentait une forte teneur en lipides (12,15%). Exprimé par rapport au taux de MG (3606 pg/g MG), ce résultat n'apparaît plus atypique.

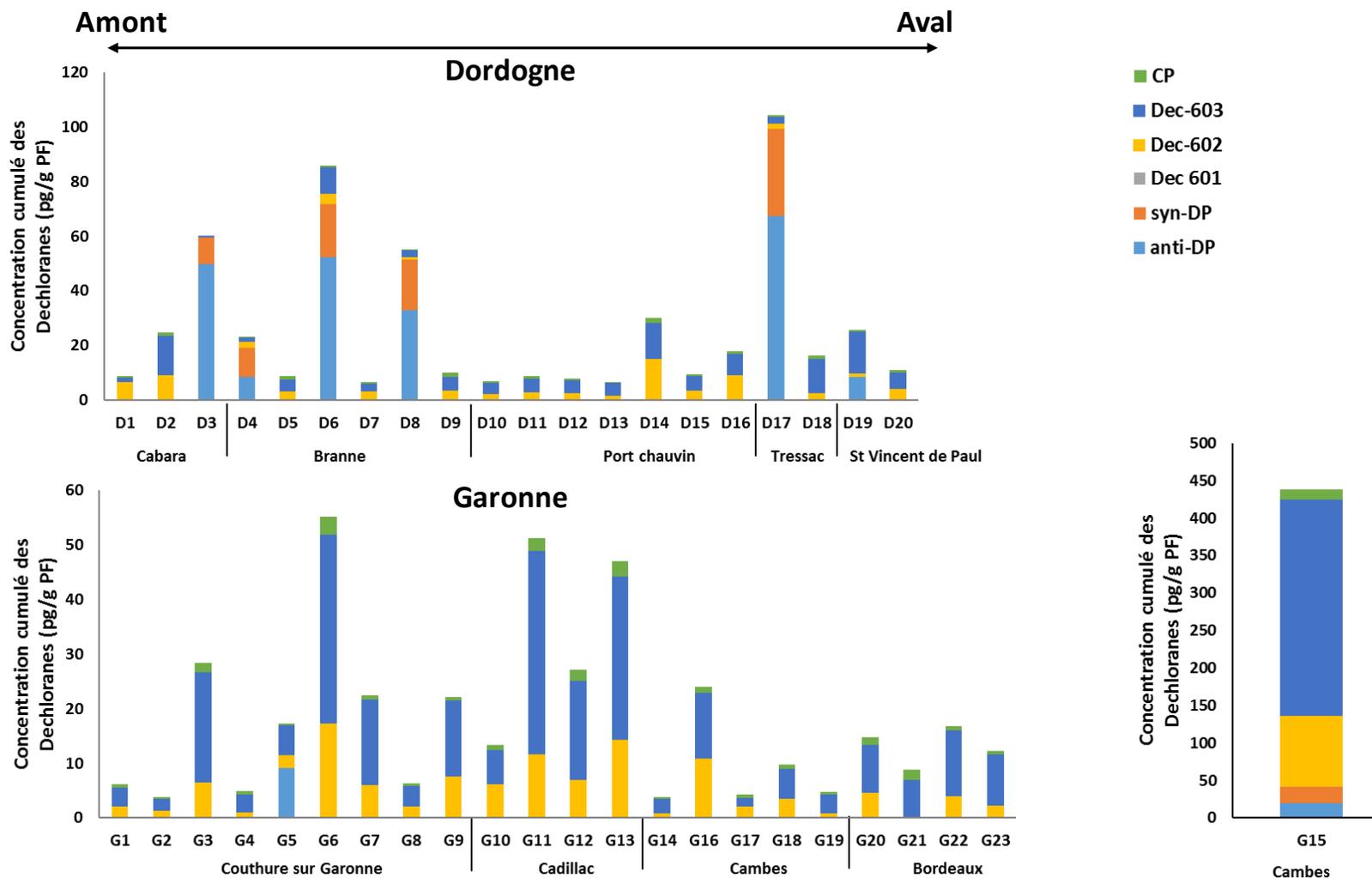


Figure 45 : Concentrations cumulées en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/g PF, scénario LB) pour chaque échantillon (D1 à D20 pour la Dordogne et G1 à G23 pour la Garonne) de la campagne d'analyse n°1.

4.2.3.2. Silures couvrant le territoire métropolitain de France

4.2.3.2.1. Concentration globales

Le **Tableau 26** résume les résultats obtenus pour les 102 échantillons de poisson de la campagne d'analyse n°3, correspondant à des poissons collectés de 22 sites différents sur le territoire français. Chaque échantillon présente des traces d'au moins un des composés ciblés, ce qui témoigne de la présence ubiquitaire de cette famille de contaminants sur l'ensemble du territoire depuis plusieurs années, les dates de prélèvements datant de 2008-2011 et 2014-2015. L'*anti*-DP a été détecté dans 47% des échantillons analysés tandis que le *syn*-DP a été identifié dans 33% d'entre eux.

Les niveaux de concentration en DP varient jusque 73,8 pg/g PF (6,01 ng/g MG), avec une valeur moyenne comprise entre 8,05 (LB) et 11,63 (UB) pg/g PF (entre 0,56 (LB) et 1,14 (UB) ng/g MG). La plus forte concentration en DP a été détectée chez un individu collecté dans le canal de Jonage (en amont de Lyon), à proximité d'une centrale hydroélectrique. Les résultats obtenus dans notre étude sont de même ordre de grandeur de ceux rapportés par Lauzent et al. (2017) dans la Garonne avec une moyenne égale à 10 pg/g PF.

Le Dec-601 n'a été détecté dans aucun des 102 échantillons analysés, peut-être parce qu'il n'est pas bioaccumulable ou plus probablement parce qu'il n'est pas utilisé en France. Inversement, le Dec-602, le Dec-603 et le CP ont été détectés dans presque tous les échantillons avec des fréquences de détection de 100%, 95% et 89%, respectivement. Le Dec-602 est ainsi le DP le plus fréquemment détecté, avec des niveaux qui varient de 0,31 à 226 pg/g PF (jusqu'à 5,30 ng/g MG) avec une moyenne égale à 11,8 pg/g PF (0,56 ng/g MG). Les concentrations de Dec-602 sont supérieures à celles du DP. Baron et al. (2012), ayant également réalisé une observation similaire, ont suggéré que cette différence entre les niveaux de Dec-602 et de DP est partiellement due à la différence de log K_{ow} (7,1 et 9,0, respectivement). Le Dec-603 a été détecté dans les échantillons de cette campagne d'analyse à des niveaux plus élevés (moyenne égale à 11,9 pg/g PF qui correspond à 0,50 ng/g MG, médiane égale à 2,02 pg/g PF) que ce qui a été rapporté par Rjabova et al. (2016) dans des échantillons de Saumon collectés en Lettonie (moyenne égale à 0,98 pg/g PF) mais plus faible de ceux obtenus par Wang et al. (2012) dans des échantillons de poisson du Nord-Est de la Chine (moyenne égale à 3,8 ng/g MG). A l'échelle nationale, le Dec-603 se distingue également par son apparence majoritaire, ce qui est en concordance avec les résultats rapportés par la campagne n°1 d'analyse et par Lauzent et al. (2017) à des moyennes proches de l'ordre de quelques dizaines de pg/g PF.

Tableau 26 : Données de prévalence (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les échantillons de silures de la campagne n°3 (n=102).

Paramètre	<i>anti-DP</i>	<i>syn-DP</i>	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ_6 Dec
Fréquence de détection	47%	34%	0%	100%	95%	89%	100%
Minimum	≤LoR	≤LoR	-	0,31	≤LOQ	≤LOQ	1,58
Moyenne (LB) ± écart-type	5,45 ± 10,45	2,60 ± 4,74	-	11,8 ± 30,4	11,9 ± 33,6	2,24 ± 6,39	34,0 ± 72,0
Moyenne (UB) ± écart-type	7,04 ± 9,69	4,60 ± 3,74	-	11,8 ± 30,4	11,9 ± 33,6	2,25 ± 6,39	37,6 ± 70,8
Médiane (LB)	-	-	-	2,65	2,02	0,48	9,26
Médiane (UB)	3,00	3,00	-	2,65	2,02	0,48	13,4
Maximum	53,1	20,6	-	226	250	45,1	408

4.2.3.2.2. Corrélations entre Dechloranes

En gardant à l'esprit que les niveaux de contamination étaient relativement faibles pour une telle comparaison, la corrélation entre les Dechloranes s'est basée sur les concentrations exprimées sur la base des poids frais et de la matière grasse, et en ne tenant compte que des valeurs quantifiées (\geq LoR). Les résultats (**Tableau 27**) indiquent que l'*anti*- et le *syn*-DP, qui sont des isomères structuraux, ne sont que modérément corrélés ($\rho=0,746$; $P<0,0001$; $n=53$), sans doute parce que chacun a des propriétés de bioaccumulation différentes. En ce sens, plusieurs études sur les diastéréoisomères, les énantiomères ou les atropisomères ont montré que la conformation spatiale des composés peut affecter les propriétés de la bioaccumulation (Wong et al., 2002 ; Dang et al., 2010 ; Luo et al., 2013). D'autres corrélations significatives ont été observées entre le *syn*-DP et le Dec-602 ($\rho=0,384$; $P=0,026$; $n=68$) et entre le Dec-603 et le CP ($\rho=0,783$; $P<0,0001$; $n=92$).

Nous n'avons pas observé de corrélation entre le DP et les autres Dechloranes en nous basant sur les concentrations lipidiques, ni entre les autres Dechloranes, à l'exception d'une corrélation entre Dec-603 et CP ($\rho=0,71$). Cette observation suggère que les Dechloranes proviennent de sources indépendantes.

Tableau 27 : Coefficients de corrélation de Spearman (ρ) entre les concentrations en Dechloranes (basées sur PF / MG) de la campagne n°3. ^{ns} : $P>0,05$; * : $P>0,01$; † : $P\leq 0,01$; ‡ : $P\leq 0,0001$.

Variable	Dec-603	<i>anti</i> -DP	<i>syn</i> -DP	CP
Dec-602	0,669 [†] / 0,482 [‡]	0,438 [†] / 0,216 ^{ns}	0,384* / 0,094 ^{ns}	0,654 [‡] / 0,406 [‡]
CP	0,783 [‡] / 0,710 [‡]	0,578 [†] / 0,220 ^{ns}	0,316 ^{ns} / 0,248 ^{ns}	
<i>syn</i> -DP	0,340 ^{ns} / 0,120 ^{ns}	0,746 [‡] / 0,863 [‡]		
<i>anti</i> -DP	0,553 [†] / 0,227 ^{ns}			

4.2.3.3. Profil des isomères du DP

Le ratio entre isomères du DP est couramment utilisé pour évaluer le devenir et la distribution du DP dans l'environnement et le biote (Rjabova et al., 2016). La fraction d'*anti*-DP (f_{anti}) est obtenue en divisant la concentration d'*anti*-DP par la somme des concentrations d'*anti*-DP et de *syn*-DP (**Équation 6**). La valeur de f_{anti} dans les produits commerciaux varie entre 0,65 et

0,80 (Guerra et al., 2011 ; Na et al., 2015). Une valeur inférieure à 0,65 dans un échantillon indique donc un enrichissement en *syn-DP* par rapport à un profil industriel.

$$f_{anti} = \frac{[anti-DP]}{[anti-DP] + [syn-DP]}$$

Équation 6 : Calcul de la fraction d'*anti-DP* (f_{anti}).

Dans les échantillons de silure de la campagne n°1 (n=43), nous avons quantifié à la fois l'*anti-DP* et le *syn-DP* dans 6 échantillons. La moyenne de f_{anti} , égale à $0,63 \pm 0,15$ (**Figure 46**), est similaire à ce qui est rapportée pour des poisson d'eau douce dans la littérature, par exemple $0,6 \pm 0,2$ en Espagne (Barón et al., 2012), $0,48 \pm 0,16$ dans la péninsule ibérique (Santín et al., 2013), $0,56$ dans le sud de l'Europe (Giulivo et al., 2017), $0,71$ en Lettonie (Rjabova et al., 2016) et $0,67$ en Corée du Sud (Kang et al., 2010).

Pour les échantillons de la campagne n°3, 33 échantillons affichent des valeurs quantifiées à la fois pour l'*anti-DP* et le *syn-DP*. Les résultats de f_{anti} sont similaires (**Figure 46**). Ils varient de $0,32$ à $0,88$ avec une moyenne égale à $0,60 \pm 0,12$.

Pour les 3 échantillons dont le f_{anti} est supérieur à $0,8$, soit au-dessus des valeurs observées dans les produits techniques, nous suggérons deux hypothèses que nous n'avons pas investigué plus avant :

- L'*anti-DP* est dominant pour certaines sources d'exposition, hypothèse corroborée par le fait que les sites de collecte concernés par ce profil atypique sont proches les uns des autres (Loir et Loire).
- La variabilité interindividuelle conduit à un enrichissement spécifique en *anti-DP* dans certains cas.

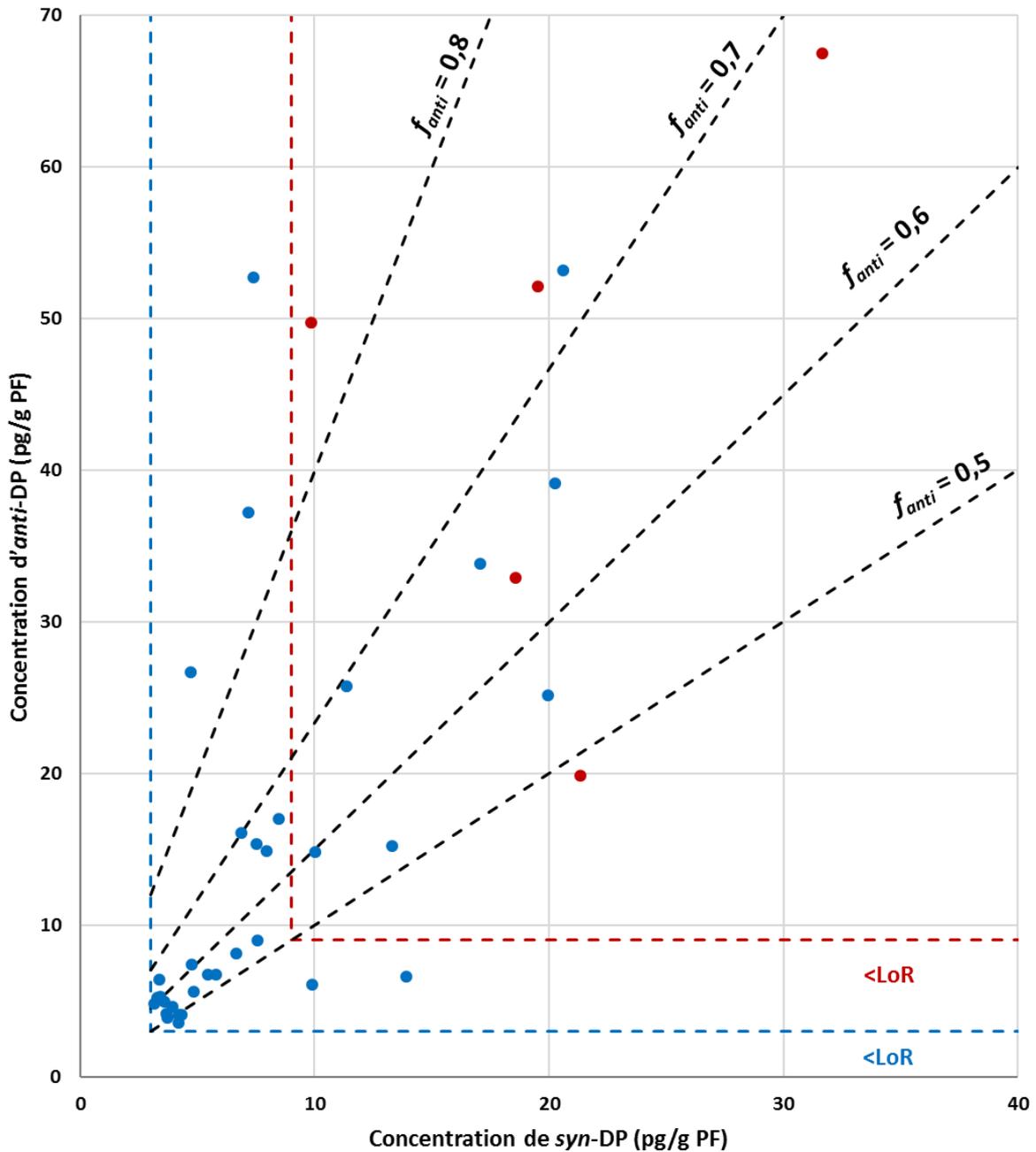


Figure 46 : Valeurs de f_{anti} obtenues pour les échantillons de silure. Rouge, campagne n°1 ; bleu, campagne n°2, pointillés, limites de LoR associées.

4.2.3.4. Corrélations entre Dechloranes et PCB

La relation entre les Dechloranes et les PCB-NDL a été statistiquement évaluée par le coefficient de corrélation de Spearman (ρ) avec la valeur-p (P) associée, en utilisant XLStat 2017 (Addinsoft, Paris, France). Nous avons eu accès aux concentrations en PCB pour 97 des 102 échantillons analysés. Les analytes correspondent à douze congénères de PCB-DL

(coplanaires : PCB-77, 81, 126 et 169 ; non coplanaires : PCB-105, 114, 118, 123, 156, 157, 167 et 189) et six congénères de PCB-NDL/indicateurs (PCB-28, 52, 101, 138, 153 et 180). Cela nous a permis de tester une éventuelle corrélation entre ces deux familles de contaminants environnementaux, les PCB et les Dechloranes.

Les concentrations des PCB-DL sont corrélées avec la somme des concentrations des PCB ou avec la somme de quelques congénères indicateurs (Afssa, 2009 ; Babut et al., 2009). Nous avons ainsi testé uniquement la corrélation des profils de contamination en Dechloranes avec ceux des six congénères indicateurs, individuellement ou en une seule variable représentant la somme de leurs concentrations individuelles ($\sum_6\text{PCB}$). Sur la base du poids frais, les valeurs de $\sum_6\text{Dec}$ et $\sum_6\text{PCB}$ apparaissent modérément corrélées ($\rho=0,679$, $P<0,0001$, $n=77$). Le Dec-602 est légèrement plus corrélé à la valeur de $\sum_6\text{PCB}$ ($\rho=0,821$, $P<0,0001$; $n=97$). Egalement, le Dec-602 est corrélé à chaque congénère représenté dans la $\sum_6\text{PCB}$ (**Tableau 28**).

Sur la base d'une expression de la contamination par rapport aux lipides, les coefficients de corrélation étaient plus faibles que ceux obtenus sur la base du poids frais, mais de même significativité ($\rho=0,729$ pour Dec-602 avec la $\sum_6\text{PCB}$, ou $\rho=0,740$ pour Dec-602 avec le PCB-153). Ceci suggère que, bien que les teneurs en lipides influencent l'accumulation des PCB et des Dechloranes, d'autres facteurs qui sont encore inexplorés et communs à ces deux groupes de contaminants, peuvent également influencer l'accumulation, comme par exemple l'urbanisation.

Tableau 28 : Coefficients de corrélation de Spearman (ρ , $P<0,0001$) entre les concentrations en Dechloranes et les PCB (basées sur PF) de la campagne n°3.

Variable	$\sum_6\text{Dec}$	Dec-602	PCB-180	PCB-153	PCB-138	PCB-101	PCB-52
$\sum_6\text{PCB}$	0,679	0,821	0,981	0,995	0,997	0,976	0,897
PCB-52	0,684	0,767	0,873	0,881	0,886	0,944	
PCB-101	0,692	0,819	0,940	0,971	0,970		
PCB-138	0,686	0,821	0,978	0,991			
PCB-153	0,677	0,832	0,970				
PCB-180	0,646	0,776					
Dec-602	0,859						

4.2.4. CONCLUSION

Dans l'ensemble, les résultats montrent que, quoiqu'à relativement faibles concentrations, les Dechloranes sont présents sur l'ensemble des cours d'eau en France. La méthode développée répond parfaitement au besoin en termes de sensibilité requise pour faire ce constat.

Les niveaux de Dechloranes observés dans des silures prélevés sur le territoire français entre 2008 et 2015 sont plus faibles que ceux décrits pour l'Asie à proximité de zones industrielles. Kang et al. (2010) ont constaté des concentrations très élevées de DP, à 24,5 ng/g MG de moyenne, dans des échantillons de poissons de rivière provenant d'une zone industrielle au sud de la Corée du Sud. L'étude de Wang et al. (2012), en Chine, rapporte également des niveaux plus élevés de Dechloranes dans les échantillons de poissons de rivière que ceux obtenus dans notre étude. Il apparaît que les valeurs moyennes et la dispersion des concentrations des Dechloranes déterminées dans nos échantillons sont concordantes et proches de celles mesurées par Rjabova et al. (2016) dans des échantillons de Saumon collectés en Lettonie.

Les niveaux de DP et de Dec-603 estimés dans notre étude sont du même ordre de grandeur (quelques ng/g MG) que ceux rapportés pour le Sud de l'Europe (Barón et al., 2012 ; Santín et al., 2013 ; Giulivo et al., 2017), alors que le Dec-602 est beaucoup plus élevés (ordre de quelques dizaines de ng/g MG dans le Sud de l'Europe).

Considérant que le nombre d'échantillons de notre étude reste relativement faible par site de prélèvement (de 2 à 9 échantillons), toute conclusion fine du point de vue de la répartition spatiale est délicate. Il est apparu que les concentrations en Dechloranes sont modérément corrélées à celles des PCB-NDL. Il convient néanmoins de rester prudents concernant les niveaux relevés et les comparaisons.

Le développement analytique ainsi que les résultats de la campagne n°3 ont fait l'objet d'une publication dans la revue *Chemosphere* (Abdel Malak et al., 2018). Au regard des informations disponibles dans la littérature, cette publication se place comme une première étude menée au niveau français. D'autres données sont souhaitables, pour étendre à d'autres espèces ou à des matrices abiotiques, pour déterminer les sources de contamination en Dec-603 ou encore pour étudier les tendances temporelles. Un autre sujet d'importance consisterait à étudier le mécanisme de (bio)dégradation des Dechloranes, ainsi que les niveaux de leurs métabolites dans le biote aquatique.

Puisque les Dechloranes ont été observés comme présents dans l'environnement, il apparaît cohérent de s'intéresser à leur transfert dans la chaîne alimentaire et le cas échéant l'évaluation de l'exposition du consommateur à ces composés persistents. Dans cette dernière partie nous allons rapporter les niveaux de Dechloranes observés dans des aliments collectés en France, au Liban et en Afrique de subsaharienne.

4.3. EXPOSITION ALIMENTAIRE

A notre connaissance, les études qui traitent de l'exposition par voie alimentaire aux Dechloranes sont rares. Seuls trois pays disposent de données d'exposition plus ou moins approfondies (Corée du Sud, Belgique, Japon) (Kim et al., 2014 ; L'Homme et al., 2015 ; Yasutake et al., 2018, respectivement) (§ 1.2.3.3.). L'évaluation de l'exposition alimentaire combine deux types d'informations qui sont relatives d'une part aux habitudes alimentaires de la population étudiée, et d'autre part aux niveaux de prévalence dans les denrées consommées.

Dans cette seconde partie applicative du travail de doctorat, la méthode finalisée a été mise en œuvre pour l'analyse de DAOA et d'huiles végétales collectées en France (n=117), au Liban (n=58) et en Afrique subsaharienne (n=58). Les objectifs principaux consistaient à :

- Produire les premières données de contamination par des Dechloranes dans différentes matrices alimentaires pour les trois zones géographiques mentionnées et les comparer ;
- Estimer les niveaux correspondants d'exposition humaine par voie alimentaire dans un contexte d'évaluation du risque.

4.3.1. HABITUDES ALIMENTAIRES ET SÉLECTION DES ÉCHANTILLONS

Différents facteurs peuvent influencer la caractérisation de l'exposition aux Dechloranes, en particulier les habitudes alimentaires comme la consommation d'aliments comptant parmi les plus contaminés. Nous avons restreint l'échantillonnage à la seule prise en compte des DAOA et des huiles végétales en raison des voies de contamination attendues pour ce type de contaminants lipophiles. Ultérieurement, il sera intéressant d'étendre à d'autres denrées, dans la mesure où, dans leur étude, Kim et al. (2014) ont pointé une contribution non négligeable des céréales.

4.3.1.1. France

Pour les habitudes alimentaires en France, nous nous sommes référés à deux grandes études réalisées par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (Anses) sur les consommations et les habitudes alimentaires de la population française, réalisées en 2006-2007 (INCA 2) et en 2014-2015 (INCA 3). Les consommations journalières individuelles moyennes ont été déterminées à partir d'enquêtes réalisées auprès de 2276 et 2121 adultes pour INCA 2 et INCA 3, respectivement.

L'étude INCA 2 est plus détaillée dans le sens où elle est divisée en groupes d'aliments et plusieurs sous-groupes, contrairement à l'étude INCA 3 qui est pourtant plus récente. Pour les sous-groupes d'aliments manquantes, nous avons utilisé INCA 2 pour calculer les pourcentages des sous-groupes que nous avons adaptés à l'étude INCA 3 par rapport à la valeur de la consommation totale du groupe de référence. Par exemple, pour le groupe « viande » la consommation journalière donnée par INCA 2 est de 61,85 g/jour avec une consommation de viande de bovin qui représente 66% du total. L'étude INCA 3 fournit seulement une valeur de consommation journalière en viande de 47,3 g/jour. Ainsi, en reportant le pourcentage indiqué dans INCA 2, la consommation journalière de viande bovine est estimée à 31,21 g/jour au regard des données l'étude INCA 3.

Le **Tableau 29** résume les moyennes de consommation alimentaire de la population française adulte obtenues après rassemblement des deux études INCA 2 et INCA 3 par rapport aux catégories de matrices sélectionnées dans notre projet. Il est à noter que nous avons considéré que les plats à base de viande et à base de poissons contiennent 100% de viandes et de poissons. Cela conduira à une surestimation probable des données d'exposition.

Tableau 29 : Moyennes de consommation (g/jour) des différents groupes de DAOA d'intérêt par la population française adulte, d'après les études INCA 2 et INCA 3. * : types d'aliments non analysés dans le cadre de ce travail mais considérés dans le calcul.

Groupe d'aliments	Type d'aliment	Consommation (g/jour)
Viande	Pièce de découpe de bovin	31,35
	Pièce de découpe de porcine	10,66
	Pièce de découpe d'ovin	3,89
	Pièce de découpe de lapin	1,40
	Pièce de découpe de volaille	26,00
	Charcuterie*	27,30
	Abats	2,70
	Plats à base viande*	14,40
Poisson	Sardine	1,77
	Saumon et truite	11,88
	Bar	0,62
	Maquereau	1,81
	Morue	6,90
	Anguille	0,02
	Plats à base de poissons*	9,30
	Fruits de mer	Divers mollusque
Moules		1,02
Huître		0,98
Coquille Saint Jacques		1,65
Produits laitiers	Laits	75,30
	Yaourt et Fromage blancs*	2,30
	Fromages*	7,73
	Entremets et crèmes dessert*	0,05
Œuf	Œufs et plats à base d'œufs	12,60

Les échantillons analysés correspondent à la campagne n°2 ; ils ont été sélectionnés parmi ceux déjà disponibles, sous forme lyophilisée, au sein du laboratoire d'accueil (LABERCA). Ils ont été collectés dans le cadre du plan national de surveillance de l'année 2016 dédié aux RF bromés et piloté par la Direction Générale de l'Alimentation. Nous avons analysé une centaine d'échantillons alimentaires d'origine animale (n=117) tels que viande (bovin, ovin, porcine, volaille et lapin), poisson, fruits de mer, lait et œuf (**Tableau 30**).

Tableau 30 : Description de l'échantillonnage de DAOA pour la France (campagne n°2).

Groupe d'aliments	Types d'aliment	Nombre d'échantillons
Viande	Pièce de découpe de bovin	5
	Pièce de découpe de porc	5
	Pièce de découpe d'ovin	7
	Pièce de découpe de lapin	4
	Pièce de découpe de volaille	4
	Pièce de découpe de gibier	6
	Abats	7
Poisson	Divers poissons	5
	Sardine	2
	Saumon et truite	5
	Bar	2
	Maquereau	2
	Morue	1
	Anguille	2
Fruits de mer	Divers mollusques	9
	Moules	14
	Huître	7
	Coquille Saint Jacques	2
Produits laitiers	Laits	16
Œuf	Œufs et plats à base d'œufs	12
Total		117

L'échantillonnage de DAOA pour la France ne représente pas nécessairement le marché français (contrôles aux frontières, supermarchés, abattoirs...), ce qui introduit un premier biais dans l'estimation de la valeur d'exposition. Un second biais provient du fait que les aliments n'ont pas été cuisinés tels que consommés. En effet, la cuisson peut éliminer une partie de la matière grasse contenant les contaminants lipophiles de type POP. La non prise en compte des pratiques culinaires aurait donc tendance à faire surestimer la valeur d'exposition.

4.3.1.2. Liban

Pour les habitudes alimentaires au Liban, nous nous sommes référés à une enquête réalisée en 2001 sur la population beyrouthine (Nasreddine et al., 2006). Elle a été réalisée sur 444 beyrouthins adultes, avec une stratification en 16 groupes de matrices alimentaires. Elle a également été stratifiée selon le genre (210 hommes et 234 femmes) et 3 catégories d'âge (25-34, 35-44 et 45-54 ans). Les moyennes de consommation obtenues dans l'enquête pour les

5 groupes de DAOA et matières grasses retenues dans notre étude sont décrites dans le **Tableau 31**.

L'étude de ces données permet de mettre en évidence des différences significatives d'habitudes alimentaires selon le genre ; il apparaît en effet que les hommes consomment significativement plus d'aliments considérés dans le cadre de ce travail (403,5 g/jour) que les femmes (372,0 g/jour). Pour ces groupes d'aliments, les femmes consomment néanmoins plus de produits laitiers que les hommes (257,1 contre 227,4 g/jour). Selon l'âge également, les hommes et les femmes qui sont âgés entre 25 et 34 ans consomment plus d'aliments (443,8 et 406,1 g/j, respectivement) que ceux âgés entre 35-44 et 45-54 ans.

En juin 2017, nous avons réalisé l'échantillonnage d'une campagne d'aliments d'origines animale et végétale (n=58) qui sont consommés de manière régulière par la population beyrouthine. L'ensemble des échantillons a été collecté dans des supermarchés localisés à Beyrouth (capitale du Liban). Les échantillons ont été préparés, pesés et lyophilisés à l'Université Libanaise (LACO), conservés dans des boîtes en plastique hermétiques et transportés au laboratoire d'accueil (LABERCA) afin de mettre en œuvre le protocole d'analyse finalisé. Ces échantillons ont été analysés dans le cadre de la campagne n°4.

Tableau 31 : Moyennes de consommation (g/jour) des différents groupes de DAOA et matières grasses d'intérêt par la population beyrouthine (\pm écart-type, intervalle de confiance à 95%) (Nassreddine et al., 2006).

Groupe d'aliments	Moyennes de consommation (g/jour)								
	Ensemble (n=444)	Homme (n=210)	Femme (n=234)	Homme			Femme		
				25-34 ans (n=84)	35-44 ans (n=67)	45-54 ans (n=59)	25-34 ans (n=91)	35-44 ans (n=78)	45-54 ans (n=65)
Viande	91,7 \pm 44,6	115 \pm 47,0	71,1 \pm 29,8	132 \pm 48,6	113 \pm 44,4	92,8 \pm 37,7	76,9 \pm 32,6	70,6 \pm 29,0	63,6 \pm 25,1
Poisson	19,7 \pm 17,3	21,3 \pm 19,9	18,2 \pm 14,5	19,2 \pm 15,9	27,3 \pm 26,3	17,6 \pm 14,9	18,5 \pm 13,4	19,6 \pm 16,6	16,4 \pm 13,5
Œuf	12,1 \pm 13,6	15,5 \pm 15,8	9,0 \pm 10,3	13,8 \pm 14,0	15,0 \pm 15,8	18,7 \pm 17,8	8,7 \pm 8,6	8,8 \pm 9,8	9,9 \pm 12,9
Produits laitiers	243 \pm 141	227 \pm 120	257 \pm 156	232 \pm 132	213 \pm 106	237 \pm 119	265 \pm 168	263 \pm 157	240 \pm 139
Graisses et huiles	20,4 \pm 8,4	24,6 \pm 9,4	16,6 \pm 4,9	46,8 \pm 27,9	36,5 \pm 25,6	31,7 \pm 27,9	37,0 \pm 29,0	23,4 \pm 19,5	25,1 \pm 39,9

Nous avons réparti les échantillons selon les 5 groupes d'aliments : viande (bœuf et poulet), poisson, œuf (poule), produits laitiers (yaourt, lait et labné) et huiles végétales (olive et sésame) (**Tableau 32**). Ainsi, quoique moins important, l'échantillonnage réalisé pour le Liban apparaît plus adapté que celui pour la France puisque même si les échantillons n'ont pas non plus été préparés tels que consommés comme il est recommandé dans le cadre d'études d'exposition, ils correspondent toutefois mieux à ce qui est réellement acheté par le consommateur.

Tableau 32 : Description de l'échantillonnage de DAOA et de matières grasses pour le Liban (campagne n°4).

Groupe d'aliments	Nombre d'échantillons
Viande	12
Poisson	21
Œuf	5
Produits laitiers	13
Graisses et huiles	7
Total	58

Pour les groupes d'aliments, tels que la viande, les poissons, les produits laitiers, les graisses et les huiles, dont les détails de consommation ne sont pas connus, nous avons calculé une moyenne par groupe. Plus en détails, nous avons collecté pour le groupe de la viande des échantillons de bœuf (n=3), de foie de bovin (n=3) et de poulet (n=6). Les produits laitiers regroupent les échantillons de lait (n=5), de yaourt (n=4) et de labné (n=4). Pour le groupe des poissons, nous avons échantillonné de la bogue (n=3), de la dorade (n=2), du maquereau (n=2), du merlan (n=2), des anchois (n=2), du mérrou (n=5), de la dorade noire (n=2) et du bar (n=2). Finalement, pour le groupe des graisses et des huiles, nous avons collecté des échantillons d'huile d'olive (n=4) et d'huile de sésame (n=3). Le taux de matière grasse varie entre 2,28 et 12,39% pour les viandes, entre 0,73 et 11,28% pour les poissons, entre 8,77 et 11,62% pour l'œuf et entre 0,02 et 15,48% pour les produits laitiers.

4.3.1.3. Afrique subsaharienne

Cette partie s'insère dans le cadre d'une étude financée par la FAO et qui fait l'objet d'une thèse initiée en 2014 (Luc INGENBLEEK) dirigée par Bruno LE BIZEC (Oniris) et co-encadrée par Sara EYANGO (Centre Pasteur du Cameroun, OMS) et Jean-Charles LEBLANC

(Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, Italie). L'échantillonnage d'aliments préparés tels que consommés a été réalisé dans 4 pays d'Afrique subsaharienne : Cameroun, Mali, Benin et Nigeria. Les habitudes alimentaires de la population de ces 4 pays africains seront décrites dans le manuscrit de thèse du doctorant, actuellement en cours de rédaction. Plusieurs familles de substances ont été analysées : hydrocarbures aromatiques polycycliques, substances poly- et perfluoroalkyles, PCDD/F, PCB, RF bromés, métaux, pesticides. Nous avons proposé de réaliser les analyses de Dechloranes pour compléter la portée de cette étude ambitieuse.

Au regard des denrées d'intérêt pour notre étude, nous avons sélectionné 58 échantillons composites d'aliments couvrant les DAOA et matières grasses végétales tels que décrits au **Tableau 33**. Chaque pays a fait l'objet d'une série de préparation de l'échantillon, l'ensemble ayant été analysé au cours d'une seule séquence correspondant à la campagne n°5.

Tableau 33 : Description de l'échantillonnage de denrées alimentaires d'origine animales et végétales pour l'Afrique subsaharienne (campagne n°5).

Pays	Groupe d'aliments	Nombre d'échantillons	Pays	Groupe d'aliment	Nombre d'échantillons
Cameroun (n=14)	Bœuf	2	Mali (n=12)	Bœuf	1
	Poisson	2		Mouton	1
	Poisson fumé	2		Poisson fumé	2
	Œuf	1		Œuf	1
	Lait concentré	1		Lait fermenté	1
	Bouillon	1		Lait concentré	1
	Noix de palme	1		Noix de cajou	1
	Chocolat	1		Autre graine de noix	1
	Huile de palme	1		Huile de palme	1
	Huile végétale	2		Autre huile végétale	2
Nigeria (n=16)	Bœuf	2	Benin (n=16)	Bœuf	2
	Poisson	1		Poulet	1
	Mollusque	1		Poisson	1
	Œuf	1		Poisson fumé	1
	Lait concentré	1		Œuf	1
	Lait	1		Lait fermenté	1
	Bouillon	2		Produit laitier	2
	Graine	2		Graine	2
	Chocolat	1		Autre graine de noix	1
	Huile végétale	1		Huile végétale	2
	Huile de palme	2		Huile de palme	1
Huile d'arachide	1	Huile d'arachide	1		
Total			58		

En comparaison des échantillonnages réalisés pour la France et le Liban, cette étude complète et d'envergure respecte les recommandations internationales en la matière. Après stratification complète des groupes d'aliments sur la base d'enquêtes approfondies, les échantillons ont été préparés tels que consommés afin de représenter au mieux ce qui est réellement ingéré par le consommateur. Les pratiques culinaires sont notamment importantes pour certains types de contaminants tels que les migrants de matériaux au contact des aliments ou les substances thermolabiles, mais également pour les composés lipophiles qui pourraient être partiellement éliminés dans un jus de cuisson non consommé par exemple. De plus, chaque échantillon est dit composite car constitué de plusieurs sous-échantillons (12 sous-échantillons par échantillon composite). Cette approche permet d'améliorer la représentativité des échantillons en termes d'exposition moyenne en augmentant l'échantillonnage (nombre de sous-échantillons) tout en limitant le nombre d'analyses à réaliser.

4.3.2. NIVEAUX DE PRÉVALENCE DANS LES ALIMENTS

Les échantillons correspondant aux trois zones géographiques de prélèvement ont été analysés selon le protocole développé au cours de ce travail de thèse. Les résultats quantitatifs relatifs à leur contamination en déchloranes ont été interprétés à la lumière de deux scénarios LB et UB tels que décrits au § 4.2.2.3., afin d'encadrer la valeur vraie, suivant les valeurs de LOQ et LoR décrites au § 4.1.3. Notamment, les LOQ ont été déterminées par groupe d'aliment pour les campagnes relatives à la France et au Liban, et individualisées par échantillons pour la campagne dédiée à l'Afrique subsaharienne. Les LoR ont été déterminées par pays, c'est-à-dire par campagne pour la France et le Liban, et par série pour chaque pays d'Afrique subsaharienne.

4.3.2.1. France

Pour l'ensemble des échantillons prélevés en France, la fréquence de détection d'au moins un composé ciblé est de 82%. Le **Tableau 34** présente le détail des résultats obtenus.

Le cumul \sum_6 Dec dans ces échantillons varie entre n.d. et 226 pg/g PF (3284 pg/g MG) avec une moyenne de 12,7 pg/g PF (360 pg/g MG).

La fréquence de détection de chacun des composés apparaît variable d'un type de matrice à l'autre. Elle est de 24% et 28% pour pour l'*anti*-DP et le *syn*-DP seuls, respectivement.

La concentration de DP (*anti*-DP + *syn*-DP) varie entre n.d. et 148 pg/g PF (2722 pg/g MG) avec une moyenne de 3,92 pg/g PF (147 pg/g MG). Les niveaux de prévalence du Dec-602, du Dec-603 et du CP varient entre n.d. et 16,84, 203 et 66,7 pg/g PF, avec des moyennes de 1,58, 6,36 et 0,80 pg/g PF, respectivement. Le Dec-601 n'a été détecté dans aucun des échantillons analysés.

Selon le scénario LB, l'œuf est la matrice présentant le niveau cumulé de Dechloranes le plus élevé ($\sum_6\text{Dec}=28,93$ pg/g PF, dominé par le DP et le Dec-603 à des contributions similaires). A l'opposé, le lait présente le niveau total le plus faible (1,14 pg/g PF, DP majoritaire). Pour la viande, le poisson et le foie, le Dec-603 est le composé majoritaire. Pour les fruits de mer et le poulet, les profils sont plus équilibrés entre les différents composés.

Tableau 34 : Données de contamination (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les DAOA collectées en France (campagne n°2, n=117).

Groupe d'aliments	Paramètre descriptif	anti-DP	syn-DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ ₆ Dec
Viande (Pièce de découpe de bovin, ovin, porc et lapin ; n=21)	Fréquence de détection (%)	14%	24%	0%	24%	52%	10%	67%
	Moyenne (LB) pg/g PF	0,47	1,68	0	0,08	9,25	0,11	11,59
	Moyenne (UB) pg/g PF	4,03	4,9	0,59	0,19	9,43	0,37	19,51
	Écart-type (LB) pg/g PF	2,06	5,24	0	0,14	23,44	0,38	23,77
	Écart-type (UB) pg/g PF	2,11	5,2	0,42	0,15	23,36	0,35	23,40
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	0	0,34	0	1,12
	Médiane (UB) pg/g PF	3,84	3,5	0,4	0,12	0,67	0,25	10,47
	Concentration maximale pg/g PF	12,6	26,35	<LOQ	0,58	96,01	1,67	96,01
Foie (Abats ; n=7)	Fréquence de détection	14%	14%	0%	100%	86%	14%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	0,06	0,19	0	0,5	7,69	0,14	8,58
	Moyenne (UB) pg/g PF	4,35	4,07	0,48	0,64	7,72	0,36	17,61
	Écart-type (LB) pg/g PF	0,16	0,51	0	0,34	13,78	0,37	14,44
	Écart-type (UB) pg/g PF	0,53	0,57	0,06	0,34	13,76	0,28	14,22
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	0,41	1,67	0	2,83
	Médiane (UB) pg/g PF	4,21	4,18	0,47	0,54	1,67	0,27	11,79
	Concentration maximale pg/g PF	5,1	4,78	<LOQ	1,31	37,86	0,99	40,33
Volaille (Pièce de découpe volaille ; n=10)	Fréquence de détection	30%	30%	0%	60%	30%	20%	60%
	Moyenne (LB) pg/g PF	2,84	5,06	0	0,85	3,02	6,77	18,53
	Moyenne (UB) pg/g PF	5,92	7,84	0,51	0,95	3,27	6,92	25,41
	Écart-type (LB) pg/g PF	6,41	10,06	0	1,22	7,68	21,05	44,81
	Écart-type (UB) pg/g PF	6,64	10,28	0,24	1,22	7,57	20,99	45,03
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	0,18	0	0	0,46
	Médiane (UB) pg/g PF	3,09	2,8	0,36	0,27	0,57	0,23	7,59
	Concentration maximale pg/g PF	23,21	33,62	<LOQ	3,31	24,59	66,66	143,92
Poisson (Sardine, saumon, truite, bar, maquereau, morue, anguille et divers ; n=19)	Fréquence de détection	5%	21%	0%	95%	53%	16%	95%
	Moyenne (LB) pg/g PF	0,11	0,78	0	3,66	11,96	0,38	16,88
	Moyenne (UB) pg/g PF	4,04	4,34	0,43	3,78	12,03	0,85	25,47
	Écart-type (LB) pg/g PF	0,47	2,03	0	4,08	46,3	1,25	50,96

	Écart-type (UB) pg/g PF	1,32	2,56	0,14	4,11	46,28	1,13	52,13
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	2,37	0,38	0	4,30
	Médiane (UB) pg/g PF	3,65	3,58	0,4	2,47	0,38	0,53	12,48
	Concentration maximale pg/g PF	6,3	12,75	<LOQ	17,04	202,99	5,43	226,29
Fruits de mer (Moule, huître, coquille Saint Jacques et divers mollusque ; n=32)	Fréquence de détection	47%	41%	0%	100%	88%	50%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	2,04	1,72	0	2,98	2,42	0,45	9,62
	Moyenne (UB) pg/g PF	4,8	4,22	0,22	3,07	2,45	0,75	15,52
	Écart-type (LB) pg/g PF	3,64	3,54	0	2,61	2,62	0,6	9,03
	Écart-type (UB) pg/g PF	3,73	3,51	0,06	2,61	2,59	0,71	8,90
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	2,12	1,68	0,05	5,79
	Médiane (UB) pg/g PF	3,57	2,82	0,21	2,2	1,68	0,5	12,55
Œuf (n=12)	Concentration maximale pg/g PF	19,28	15,31	<LOQ	10,01	10,19	2,11	29,66
	Fréquence de détection	33%	33%	0%	83%	92%	8%	92%
	Moyenne (LB) pg/g PF	4,51	10,32	0	0,53	13,47	0,1	28,93
	Moyenne (UB) pg/g PF	8,28	13,72	0,19	0,65	13,48	0,16	36,49
	Écart-type (LB) pg/g PF	12,71	29,82	0	0,46	43,11	0,35	57,48
	Écart-type (UB) pg/g PF	12,88	29,99	0,03	0,46	43,11	0,33	57,96
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	0,42	1,12	0	2,48
Lait (n=16)	Médiane (UB) pg/g PF	3,9	3,53	0,18	0,56	1,12	0,06	9,82
	Concentration maximale pg/g PF	48,29	108,01	<LOQ	1,77	150,36	1,2	153,18
	Fréquence de détection	6%	19%	0%	44%	0%	0%	56%
	Moyenne (LB) pg/g PF	0,39	0,72	0	0,03	0	0	1,14
	Moyenne (UB) pg/g PF	2,45	2,58	0,27	0,1	0,1	0,06	5,54
	Écart-type (LB) pg/g PF	1,56	2,78	0	0,04	0	0	4,34
	Écart-type (UB) pg/g PF	1,77	2,94	0,06	0,05	0,02	0,01	4,75
	Médiane (LB) pg/g PF	0	0	0	0	0	0	0,04
	Médiane (UB) pg/g PF	1,98	1,79	0,25	0,08	0,09	0,05	4,29
	Concentration maximale pg/g PF	8,89	13,55	<LOQ	0,23	<LOQ	<LOQ	17,40

4.3.2.2. Liban

Pour l'ensemble des échantillons du Liban, la fréquence de détection d'au moins un composé ciblé est de 91%. Le **Tableau 35** présente le détail des résultats obtenus. Globalement, le cumul $\sum_6\text{Dec}$ s'étend de n.d. à 159 pg/g PF (5356 pg/g MG) avec une moyenne de 13,83 pg/g PF (347 pg/g MG) et une médiane de 1,96 pg/g PF.

Le DP a été observé à une concentration qui varie entre n.d. et 159 pg/g PF (5356 pg/g MG, viande) avec une moyenne égale à 8,96 pg/g PF (207 pg/g MG), faisant de cette substance le plus fort contributeur au profil de contamination en Dechloranes, tous types de matrices confondus.

Nous avons également observé le Dec-602, le Dec-603 et le CP à des concentrations variant entre n.d. et 96,4, 8,1 et 22,5 pg/g PF, respectivement, le Dec-602 étant le plus important des trois. Ce dernier apparaît surtout dans les poissons et les produits laitiers. Les fréquences de détection et niveaux les plus bas (hors Dec-601) reviennent au Dec-603 et au CP, à hauteur de 28% chacun. Le Dec-601 a été détecté dans un seul échantillon (huile de sésame), à une concentration de 11,9 pg/g PF. A notre connaissance, le Dec-601 n'a jamais été identifié dans le biote ou dans une matrice environnementale abiotique dans le monde. Cette observation a été notamment rendue possible par les performances de séparation chromatographique permettant de le discriminer du *syn*-DP (§ 2.3.).

Les graisses et les huiles présentent la moyenne la plus élevée en Dechloranes (entre 21,23 (LB) et 76,92 (UB) pg/g PF) suivies par la viande (entre 17,5 (LB) et 21,1 (UB) pg/g PF) avec une dominance du DP dans les deux groupes. Les produits laitiers présentent les moyennes les plus faibles, entre 4,69 (LB) et 6,67 (UB) pg/g PF avec une dominance du Dec-602. Pour les autres matrices, le composé majoritaire de la viande et de l'œuf est le DP.

Tableau 35 : Données de prévalence (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les DAOA et matières grasses collectées au Liban (campagne n°4, n=58).

Groupe d'aliments	Paramètre descriptif	anti-DP	syn-DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ ₆ Dec
Viande (Pièce de découpe de bovin, de foie et de poulet ; n=12)	Fréquence de détection	83%	25%	0%	0%	17%	0%	91%
	Moyenne (LB) pg/g PF	7,36	10,1	0	0	0,1	0	17,5
	Moyenne (UB) pg/g PF	8,06	11,77	0,25	0,67	0,29	0,04	21,1
	Écart-type (LB) pg/g PF	18,3	28	0	0	0,25	0	46,3
	Écart-type (UB) pg/g PF	18,2	27,9	0,21	0,46	0,31	0,03	46
	Médiane (LB) pg/g PF	0,36	0	0	0	0	0	0,5
	Médiane (UB) pg/g PF	1,42	1,24	0,16	0,48	0,12	0,03	4,3
	Concentration maximale pg/g PF	63,8	97,4	<LOQ	<LOQ	0,69	<LOQ	159,31
Poisson (n=21)	Fréquence de détection	95%	57%	0%	62%	33%	62%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	3	2,05	0	6,97	0,16	0,4	12,58
	Moyenne (UB) pg/g PF	3,86	4,16	0,26	7,79	0,33	0,42	16,83
	Écart-type (LB) pg/g PF	4,13	3,29	0	20,9	0,39	0,73	23,61
	Écart-type (UB) pg/g PF	4,23	3,88	0,18	20,8	0,35	0,72	23,59
	Médiane (LB) pg/g PF	1,33	0,44	0	0,54	0	0,18	5,28
	Médiane (UB) pg/g PF	2,24	2	0,18	1,16	0,21	0,18	8,51
	Concentration maximale pg/g PF	18,7	15,4	<LOQ	96,8	1,6	2,86	106,1
Œuf (n=5)	Fréquence de détection	80%	40%	0%	20%	20%	20%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	5,22	1,73	0	1,17	0,16	1,36	9,64
	Moyenne (UB) pg/g PF	5,79	3,14	0,28	1,73	0,36	1,41	12,7
	Écart-type (LB) pg/g PF	11,1	3,68	0	2,63	0,36	3,05	20,77
	Écart-type (UB) pg/g PF	11,1	3,79	0,09	2,67	0,25	3,02	20,89
	Médiane (LB) pg/g PF	0,4	0	0	0	0	0	0,4
	Médiane (UB) pg/g PF	0,94	1,38	0,28	0,54	0,29	0,05	3,49

	Concentration maximale pg/g PF	25,7	9,92	<LOQ	6,5	0,8	6,81	46,8
Produits laitiers (n=13)	Fréquence de détection	69%	31%	0%	54%	31%	8%	92%
	Moyenne (LB) pg/g PF	0,68	1,04	0	2,92	0,05	0,01	4,69
	Moyenne (UB) pg/g PF	1,09	2,04	0,11	3,31	0,1	0,03	6,67
	Écart-type (LB) pg/g PF	1	1,89	0	5,79	0,08	0,02	5,85
	Écart-type (UB) pg/g PF	1,03	1,89	0,06	5,85	0,06	0,02	6,19
	Médiane (LB) pg/g PF	0,26	0	0	0,21	0	0	2,51
	Médiane (UB) pg/g PF	0,6	1,25	0,11	0,51	0,07	0,02	4,01
	Concentration maximale pg/g PF	3,53	6,33	<LOQ	19,17	0,22	0,08	19,14
Graisses et huiles (n=7)	Fréquence de détection	57%	14%	14%	29%	29%	14%	57%
	Moyenne (LB) pg/g MG	18,7	2,36	1,7	2,98	2,25	3,22	31,23
	Moyenne (UB) pg/g MG	27,9	25	4,62	11,8	3,91	3,72	76,92
	Écart-type (LB) pg/g MG	32	6,25	4,5	6,29	3,85	8,52	45,85
	Écart-type (UB) pg/g MG	32,1	6,24	3,33	6,39	2,72	8,3	44,11
	Médiane (LB) pg/g MG	4,18	0	0	0	0	0	4,18
	Médiane (UB) pg/g MG	13,6	23	3,35	8,98	2,45	0,57	53,93
	Concentration maximale pg/g MG	97,2	39,1	11,9	25,9	8,07	22,5	116,35

4.3.2.3. Afrique subsaharienne

Pour l'ensemble des échantillons d'Afrique subsaharienne, la fréquence de détection d'au moins un composé ciblé est de 98%, en dépit du fait que les LoR obtenues sont plus élevées pour les isomères du DP (§ 4.1.3.2.). Néanmoins, en dépit d'une fréquence de détection supérieure, il apparaît que les niveaux observés dans les échantillons d'Afrique subsaharienne sont globalement plus faibles que ceux obtenus pour la France et le Liban. Le **Tableau 36** présente le détail des résultats obtenus. Les valeurs de cumul \sum_6 Dec varient entre n.d. et 47,8 pg/g PF (888 pg/g MG) avec une moyenne de 10,9 pg/g PF (109 pg/g MG).

Parmi tous les composés, le DP est le plus fort contributeur (dans tous les groupes d'aliments, à l'exception du poisson où le Dec-602 est le composé majoritaire), sa concentration variant entre n.d. et 47,4 pg/g PF (865 pg/g MG), avec une moyenne égale à 7,5 pg/g PF (73 pg/g MG). Le niveau du DP le plus élevé a été observé dans le bouillon suivant les deux scénarios.

Les concentrations en Dec-602, en Dec-603 et en CP varient entre n.d. et 33,1, 9,01 et 2,2 pg/g PF (LB), respectivement. Les niveaux le plus élevés pour chacun de ces trois composés ont été observés dans le poisson, le chocolat et le bouillon, respectivement.

Le Dec-601 a été détecté dans un seul échantillon (poisson fumé), à une concentration égale à 0,9 pg/g PF. Avec l'échantillon d'huile du Liban, cela porte à deux le nombre d'échantillons pour lesquels, à notre connaissance, du Dec-601 a pu être identifié et quantifié.

Le bouillon présente la moyenne la plus élevée en Dechloranes (entre 25,78 (LB) et 31,46 (UB) pg/g PF, avec une dominance en *anti*-DP). Les produits laitiers et les fruits de mer présentent les moyennes les plus faibles, entre 1,1 (LB) et 3,2 (UB) pg/g PF et entre 1,2 (LB) et 1,5 (UB) pg/g PF, respectivement, avec une dominance du DP.

Tableau 36 : Données de prévalence (pg/g PF) obtenues pour les Dechloranes dans les denrées alimentaires d'origine animales et végétales collectées en Afrique subsaharienne (campagne n°5, n=58).

Groupe d'aliments	Paramètres descriptif	anti-DP	syn-DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ ₆ Dec
Viande (Pièce de découpe de bœuf, mouton, poulet ; n=9)	Fréquence de détection	100%	100%	0%	100%	0%	11%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	5,86	3,42	0	1,1	0	0,02	10,41
	Moyenne (UB) pg/g PF	6,22	4,08	0,21	1,13	0,54	0,05	12,23
	Écart-type (LB) pg/g PF	6,53	4,53	0	0,76	0	0,07	10,31
	Écart-type (UB) pg/g PF	6,49	4,53	0,12	0,76	0,33	0,07	10,54
	Médiane (LB) pg/g PF	3,99	1,65	0	0,89	0	0	7,45
	Médiane (UB) pg/g PF	4,08	1,87	0,16	1	0,47	0,03	9,21
Concentration maximale pg/g PF	21,90	11,40	<LOQ	2,50	<LOQ	0,22	34,02	
Poisson (Poisson et poisson fumée ; n=9)	Fréquence de détection	100%	89%	11%	100%	44%	78%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	4,16	2,55	0,09	11,21	0,55	0,69	19,26
	Moyenne (UB) pg/g PF	4,84	3,78	0,58	11,28	0,82	0,7	22,00
	Écart-type (LB) pg/g PF	5,44	3,03	0,28	10,06	0,69	0,51	16,95
	Écart-type (UB) pg/g PF	5,87	3,77	0,5	10,03	0,47	0,5	18,12
	Médiane (LB) pg/g PF	1,23	0,97	0	8,02	0	0,63	13,46
	Médiane (UB) pg/g PF	1,58	1,51	0,41	8,02	0,66	0,63	14,2
Concentration maximale pg/g PF	15,44	8,03	0,84	33,06	1,68	1,38	47,56	
Fruits de mer (n=1)	Fréquence de détection	100%	100%	0%	100%	0%	0%	100%
	Concentration (LB) pg/g PF	0,6	0,23	0	0,37	0	0	1,2
	Concentration (UB) pg/g PF	0,63	0,31	0,06	0,37	0,12	0,01	1,51
Œuf (n=4)	Fréquence de détection	100%	75%	0%	75%	50%	0%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	3,87	1,28	0	0,63	0,52	0	6,3
	Moyenne (UB) pg/g PF	4,12	1,76	0,19	0,65	0,73	0,04	7,48
	Écart-type (LB) pg/g PF	2,14	0,91	0	0,48	0,86	0	3,69

	Écart-type (UB) pg/g PF	2,02	0,64	0,16	0,48	0,72	0,03	3,29
	Médiane (LB) pg/g PF	3,87	1,55	0	0,68	0,15	0	6,14
	Médiane (UB) pg/g PF	4,05	1,83	0,16	0,72	0,41	0,03	7,12
	Concentration maximale pg/g PF	6,46	2,02	<LOQ	1,15	1,80	<LOQ	10,84
Lait (n=8)	Fréquence de détection	75%	50%	0%	100%	0%	0%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	0,56	0,24	0	0,29	0	0	1,1
	Moyenne (UB) pg/g PF	1,04	0,93	0,43	0,33	0,42	0,05	3,2
	Écart-type (LB) pg/g PF	0,77	0,28	0	0,18	0	0,01	1,18
	Écart-type (UB) pg/g PF	0,64	0,42	0,4	0,2	0,41	0,04	1,83
	Médiane (LB) pg/g PF	0,19	0,11	0	0,27	0	0	0,5
	Médiane (UB) pg/g PF	0,92	0,98	0,22	0,29	0,21	0,04	2,6
Bouillon (n=3)	Concentration maximale pg/g PF	2,18	0,66	<LOQ	0,66	<LOQ	0,04	3,50
	Fréquence de détection	100%	100%	0%	100%	33%	33%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	16,03	7,17	0	1,36	0,48	0,73	25,78
	Moyenne (UB) pg/g PF	16,31	7,81	1,55	1,4	3,47	0,91	31,46
	Écart-type (LB) pg/g PF	19,45	1,5	0	1,38	0,84	1,27	19,23
	Écart-type (UB) pg/g PF	19,45	1,5	0,78	1,45	3,58	1,11	17,7
	Médiane (LB) pg/g PF	5,18	6,5	0	0,76	0	0	17,52
Noix (cajou, palme ; n=8)	Médiane (UB) pg/g PF	5,45	7,14	1,54	0,76	1,45	0,34	23,25
	Fréquence de détection	100%	88%	0%	100%	0%	38%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	7,68	3,94	0	0,68	0	0,29	12,59
	Moyenne (UB) pg/g PF	8,73	5,64	1,25	0,74	0,86	0,41	17,63
	Écart-type (LB) pg/g PF	7,8	3,5	0	0,62	0	0,46	11,56
	Écart-type (UB) pg/g PF	8,2	3,81	1,27	0,61	0,65	0,41	12,83
	Médiane (LB) pg/g PF	6,23	3,07	0	0,48	0	0	11,44
Médiane (UB) pg/g PF	6,87	4,86	0,81	0,6	0,66	0,35	14,33	

	Concentration maximale pg/g PF	25,13	10,87	<LOQ	1,82	<LOQ	1,22	38,62
Chocolat (n=2)	Fréquence de détection	100%	100%	0%	100%	50%	50%	100%
	Moyenne (LB) pg/g PF	5,3	2,99	0	2,46	0,95	0,72	12,41
	Moyenne (UB) pg/g PF	5,65	3,8	0,8	2,54	1,23	0,76	14,78
	Écart-type (LB) pg/g PF	3,33	2,39	0	2,67	1,34	1,02	10,75
	Écart-type (UB) pg/g PF	3,28	2,3	0,25	2,77	0,93	0,96	10,5
	Médiane (LB) pg/g PF	5,3	2,99	0	2,46	0,95	0,72	12,41
	Médiane (UB) pg/g PF	5,65	3,8	0,8	2,54	1,23	0,76	14,78
	Concentration maximale pg/g PF	7,65	4,68	<LOQ	4,35	1,89	1,44	20,01
Huiles végétales (n=14)	Fréquence de détection	71%	21%	0%	93%	14%	21%	93%
	Moyenne (LB) pg/g MG	4,81	1,2	0	2	0,92	0,35	9,28
	Moyenne (UB) pg/g MG	8,34	4,46	3,22	2,28	3,95	0,62	22,88
	Écart-type (LB) pg/g MG	6,31	2,47	0	1,2	2,54	0,75	7,27
	Écart-type (UB) pg/g MG	5,3	2,56	2,1	1,29	2,27	0,66	6,36
	Médiane (LB) pg/g MG	3,47	0	0	1,76	0	0	7,7
	Médiane (UB) pg/g MG	7,46	5,14	2,32	1,83	3,6	0,29	23,28
	Concentration maximale pg/g MG	22,36	6,79	<LOQ	4,32	9,01	2,05	24,19

4.3.2.4. Comparaison entre les trois zones géographiques

Les données générées dans le cadre du présent travail constituent une base de comparaison entre trois ensembles géographiques distincts, soumis à des pressions industrielles variables et dont les populations présentent également des habitudes alimentaires différentes. Les niveaux de contamination observés sont globalement faibles, de l'ordre de quelques pg/g PF pour la Σ_6 Dec, quelle que soit la zone géographique concernée. En revanche, les profils de contamination en Dechloranes apparaissent variables d'un groupe d'aliments à l'autre et d'une zone à l'autre. En particulier, il ressort que le Dec-603 est le composé majeur dominant les profils de contamination en France, alors qu'il est très minoritaire pour les autres pays, où c'est le DP qui domine. Le Dec-602 est également largement distribué, avec une plus forte prévalence dans les poissons, quelle que soit la zone. Parmi les aliments les moins contaminés, dans ces 3 pays, apparaît le lait. La plus forte teneur en Dechloranes au Liban pour les produits laitiers provient des produits transformés (7,62 pg/g PF pour le labné et 7,49 pg/g PF pour le yaourt) alors que le lait est beaucoup moins contaminé (0,10 pg/g PF). Enfin, étonnamment, les matrices d'origine végétale semblent capter des quantités relativement importantes de Dechloranes (**Figure 47**).

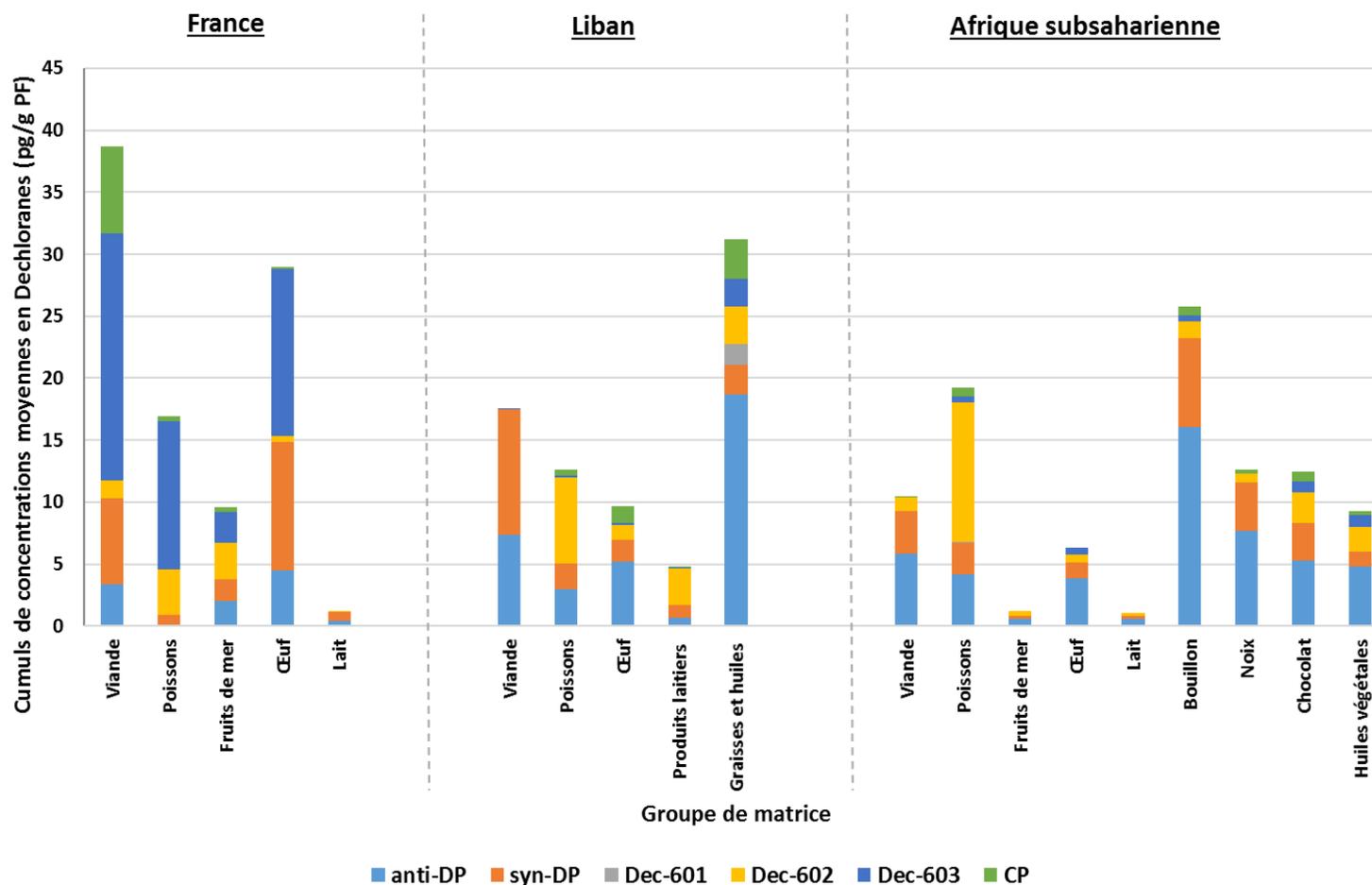


Figure 47 : Cumuls de concentrations moyennes en Dechloranes ($\sum_6\text{Dec}$, pg/g PF, scénario LB) par groupe d'aliments, observés pour la France, le Liban et l'Afrique subsaharienne.

4.3.2.5. Comparaison avec la littérature

Dans la littérature, notre attention s'est portée sur cinq études relativement récentes traitant de la prévalence des Dechloranes dans les aliments et couvrant 4 pays que sont le Japon, le Corée du Sud, la Belgique et l'Espagne (Kakimoto et al., 2012 ; Kim et al., 2014 ; L'Homme et al., 2015 ; Von Eyken et al., 2016 ; Yasutake et al., 2018). La comparaison des concentrations moyennes des Dechloranes entre les différentes études doit être considérée avec grande précaution, car les groupes de matrices ne contiennent pas nécessairement les mêmes aliments.

D'après ces études et quelle que soit la zone géographique, le DP est considéré comme étant le composé le plus fréquemment détecté et ce à des niveaux d'exposition plus élevés par rapport aux autres Dechloranes. Le Dec-604 a été détecté dans le groupe incluant viande et œuf au Japon (Yasutake et al., 2018).

Dans les deux études du Japon, les concentrations moyennes de DP estimées dans les échantillons de poissons se sont avérées similaires (2,23 vs 2,64 pg/g PF), alors que les échantillons de la première étude (Kakimoto et al., 2012) ont été collectés en 2011 et ceux de l'étude plus récente (Yasutake et al., 2018) en 2016. D'une manière générale, les concentrations de DP rapportées dans ces deux études japonaises sont plus faibles que celles du Liban et d'Afrique subsaharienne alors qu'elles sont plus élevées que celles de la France.

Pour les autres groupes d'aliments tels que la viande, l'œuf, le lait et les produits laitiers, les niveaux rapportés dans nos études sont proches de ceux qui ont été rapportés pour le Japon (Yasutake et al., 2018), plus faibles de ceux de Corée du Sud (Kim et al., 2014) mais légèrement plus élevés de ceux de Belgique (L'Homme et al., 2015). Le DP est le composé majoritaire rapporté dans les différentes matrices, à l'exception de la France où le Dec-603 apparaît majoritaire et par la suite comme un point remarquable et comparable avec les résultats obtenus dans les échantillons de silure analysés dans notre étude (voir § 4.2.3.). Pour les huiles végétales, les niveaux rapportés dans ces différentes études sont proches de ceux observés dans les produits du Liban mais légèrement plus élevés que ceux d'Afrique de subsaharienne. Dans tous les pays, le DP apparaît comme le composé majoritaire du profil de contamination en déchloranes.

La **Figure 48** montre une comparaison entre les niveaux de prévalence rapportés dans deux études et ceux obtenus dans le cadre de la présente thèse. Les niveaux de Dechloranes rapportés dans ces études sont du même ordre de grandeur, soit quelques dizaines de pg/g PF. Le profil

de contamination observé en Corée de Sud semble similaire à celui du Liban et d’Afrique subsaharienne avec une forte prédominance du DP.

Une différence significative est observée pour le groupe des poissons. Le DP et le Dec-602 sont les composés majoritaires dans tous les pays, à l’exception de la France où le Dec-603 atteint la première place. La viande apparaît comme étant le groupe d’aliment le plus contaminé en Corée du Sud et en France, alors qu’il s’agit du poisson pour le Japon, des huiles au Liban et du bouillon en Afrique subsaharienne.

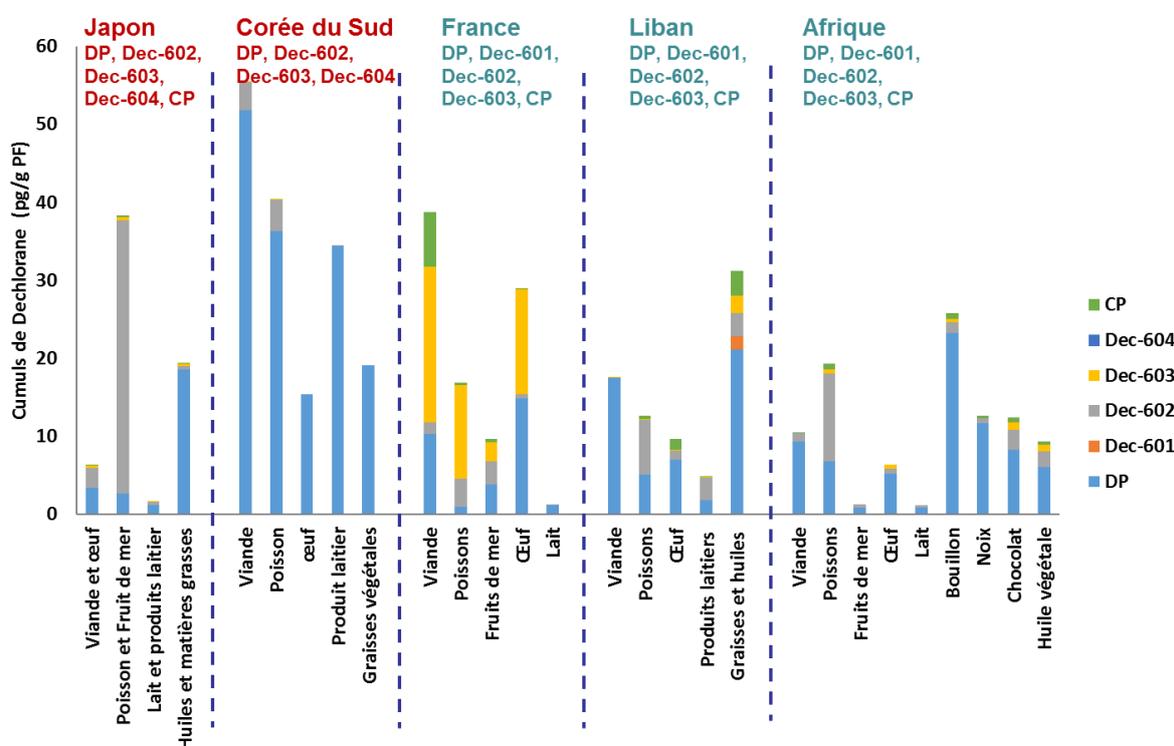


Figure 48 : Cumuls de concentrations moyennes en Dechloranes (pg/g PF, scénario LB) par groupe d’aliments pour la France, le Liban, l’Afrique subsaharienne (présente thèse), le Japon (Yasutake et al., 2018) et la Corée du Sud (Kim et al., 2014).

Suite à l’étude des niveaux de prévalence des Dechloranes dans l’ensemble des échantillons alimentaires analysés pour les 3 zones géographiques, incluant une comparaison avec les quelques données disponibles dans la littérature, nous abordons l’ultime objectif du travail, qui consistait à caractériser l’exposition alimentaire des populations étudiées.

4.3.3. ESTIMATION DE L'EXPOSITION ALIMENTAIRE

Les quantités ingérées ont été estimées pour les échantillons de France et du Liban, en combinant les moyennes de niveaux de prévalence (pg/g PF, § 4.3.2) de chaque groupe d'aliments considéré avec la consommation journalière correspondante (g PF/jour, § 4.3.1.).

Concernant l'Afrique subsaharienne, les données d'habitudes alimentaires ne nous sont pas connues et, naturellement, le travail d'estimation de l'exposition alimentaire pour les 4 pays d'Afrique subsaharienne sera réalisé prochainement dans le cadre du doctorat de Luc Ingenbleek (projet EAT Subsaharienne). Ce travail sera d'abord valorisé dans son manuscrit puis par un article collaboratif. Ainsi, après présentation des estimations de l'exposition alimentaire pour la France et le Liban, nous procédons à une comparaison entre les deux pays et avec la littérature disponible.

4.3.3.1. France

Les échantillons sélectionnés pour la France représentent seulement 12% (366,4 g/jour) du bol alimentaire quotidien (2941,6 g/jour, inclus eau, boisson, fruit, glace, ...) tel que décrit dans l'étude INCA 3 mais la majorité des groupes d'aliments contributeurs attendus pour ce type de contaminants lipophiles (DAOA). Sur la base de cette sélection, l'apport journalier total a été estimé à un niveau compris entre 1,4 (LB) et 3,3 (UB) ng/jour de Dechloranes. Le **Tableau 37** rapporte les résultats obtenus pour cet exercice d'exposition alimentaire selon chaque groupe d'aliments. La viande apparaît comme le plus fort contributeur à un niveau compris entre 0,85 (LB) et 2,01 (UB) ng/jour.

Tableau 37 : Apport journalier en Dechloranes (pg/jour) estimé pour la population française adulte.

Groupe d'aliments	Type d'aliments	Scénario	anti-DP	syn-DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ ₆ Dec	
Viande	Viandes	LB	20,48	71,06	0	6,57	173,39	4,29	275,79	
		UB	200,66	234,14	31,6	12,38	182,53	11,62	672,93	
	Volailles	LB	0	36,22	0	6,92	0	0	43,14	
		UB	75,38	104,45	20,2	9,35	14,62	3,52	227,52	
	Charcuterie	LB	51,55	158,22	0	0	0	0	209,77	
		UB	162,77	258,88	34,13	3,59	14,11	8,7	482,18	
	Abats	LB	0,16	0,52	0	1,36	20,75	0,38	23,17	
		UB	11,73	10,99	1,3	1,73	20,85	0,96	47,56	
	Plats à base viande	LB	20,56	77,35	0	3,22	193,54	2,35	297,02	
		UB	142,79	187,98	24,21	7,16	202,62	12,04	576,8	
	Total	LB	92,75	343,37	0	18,07	387,68	7,02	848,89	
		UB	593,33	796,44	111,44	34,21	434,73	36,84	2006,99	
	Poisson	Poissons	LB	0	0,29	0	46,49	11,68	0,83	59,29
			UB	83,71	76,05	9,14	49,19	14,37	12,68	245,14
Plats à base de poissons		LB	0	0,12	0	18,8	4,72	0,33	23,97	
		UB	33,85	30,75	3,69	19,89	5,81	5,13	99,12	
Total		LB	0	0,41	0	65,29	16,4	1,16	83,26	
		UB	117,56	106,8	12,83	69,08	20,18	17,81	344,26	
Fruits de mer	Crustacés et mollusques	LB	7,97	14,13	0	8,2	7,35	1,26	38,91	
		UB	17,92	23,13	0,79	8,52	7,38	1,47	59,21	
Œuf	Œufs et plats à base d'œufs	LB	56,84	129,98	0	6,71	169,76	1,26	364,55	
		UB	104,28	172,92	2,45	8,24	169,87	2,02	459,78	
Produits laitiers	Laits	LB	29,39	54,41	0	2,25	0	0	86,05	
		UB	184,13	194,45	19,97	7,24	7,2	4,3	417,29	
	Yaourt et fromage blancs	LB	0,9	1,66	0	0,07	0	0	2,63	
		UB	5,63	5,94	0,61	0,22	0,22	0,13	12,75	

	Fromages	LB	3,02	5,58	0	0,23	0	0	8,83
		UB	18,89	19,95	2,05	0,74	0,74	0,44	42,81
	Entremets et crèmes dessert	LB	0,02	0,04	0	0	0	0	0,06
		UB	0,13	0,13	0,01	0	0	0	0,27
	Total	LB	33,33	61,69	0	2,55	0	0	97,57
		UB	208,78	220,47	22,64	8,2	8,16	4,87	473,12
Total	LB	190,89	549,58	0	100,82	581,19	10,7	1433,18	
	UB	1041,87	1319,76	150,15	128,25	640,32	63,01	3343,36	

4.3.3.2. Liban

Les échantillons sélectionnés pour le Liban représentent 21% (387 g/jour) du bol alimentaire quotidien de la population beyrouthine adulte (1881,6 g/jour, inclus boisson et jus). Sur la base de cette sélection, nous avons estimé que chaque beyrouthin ingère en moyenne entre 3,7 (LB) et 5,6 (UB) ng/jour de Dechloranes. La viande (1,61 ng/jour, LB) apparaît comme le plus fort contributeur, suivie des produits laitiers (1,14 ng/jour, LB). Le **Tableau 38** rapporte les résultats obtenus pour cette exercice d'exposition alimentaire selon chaque groupe d'aliment.

Tableau 38 : Apport journalier en Dechloranes (pg/jour) estimé pour la population beyrouthine adulte.

Groupe d'aliments	Scénario	anti-DP	syn-DP	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP	Σ ₆ Dec
Viande	LB	675,3	922,1	0	0	9,6	0	1607
	UB	739,1	1079,3	22,7	61,4	26,3	3,9	1932,7
Poisson	LB	59,2	40,3	0	137,3	3,2	7,9	247,9
	UB	76,1	81,9	5,1	153,6	6,6	8,3	331,6
Œuf	LB	63,1	20,9	0	14,2	1,9	16,5	116,6
	UB	70	38	3,4	20,9	4,4	17	153,7
Produits laitiers	LB	165,1	253,1	0	708,7	11,1	1,6	1139,6
	UB	263,8	495,9	27,9	803,6	23,8	6,7	1621,7
Graisses et huiles	LB	381,7	48,2	34,7	60,9	46	65,7	637,2
	UB	568,9	509,2	94,3	241,1	79,8	76	1569,3
Total	LB	1344,4	1284,6	34,7	921,1	71,8	91,7	3748,3
	UB	1717,9	2204,3	153,4	1280,6	140,9	111,9	5609

En exploitant les données de stratification fournies par Nassredine et al. (2006), nous avons constaté que les hommes ingèrent plus de Dechloranes, entre 4,26 (LB) et 6,38 (UB) ng/jour, que les femmes, entre 3,28 (LB) et 4,91 (UB) ng/jour, majoritairement du fait que les hommes consomment plus des différents groupes de DAOA et matières grasses végétales que les femmes (**Figure 49**), à l'exception des produits laitiers (227,4 vs 257,1 g/jour, respectivement). Il y a également une tendance à la baisse lorsque l'âge augmente, ce qui est directement lié à une baisse du bol alimentaire (**Figure 50**).

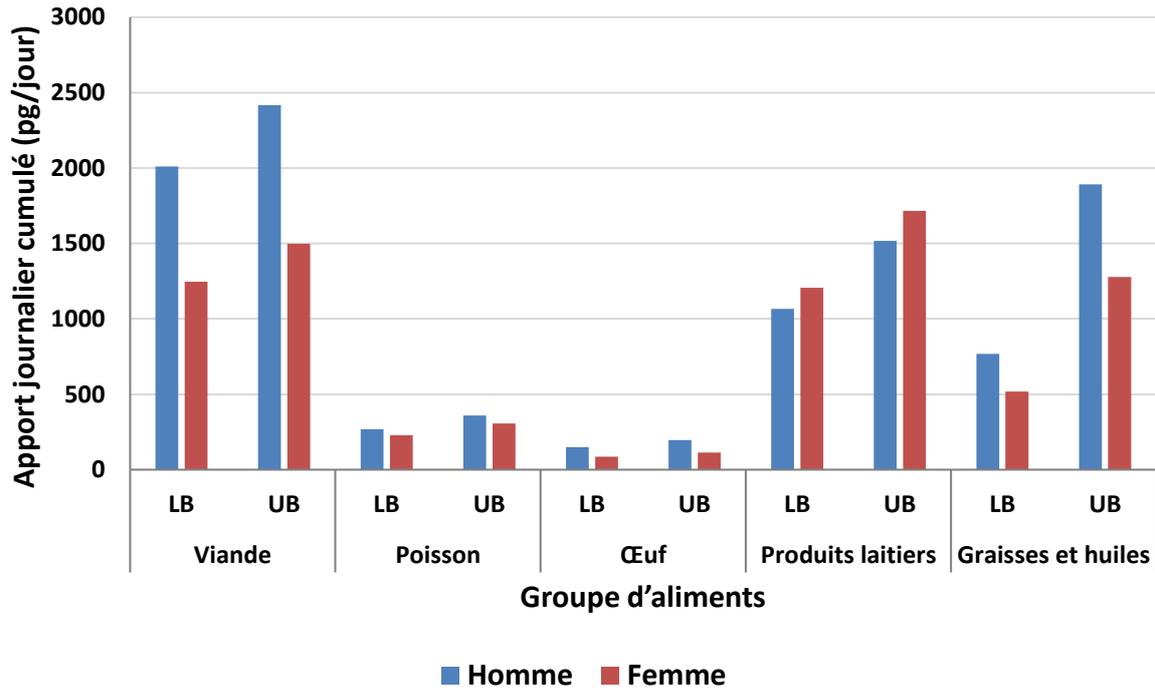


Figure 49 : Apport journalier cumulé en Dechloranes ($\Sigma_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé selon le groupe d'aliments et par genre pour la population beyrouthine.

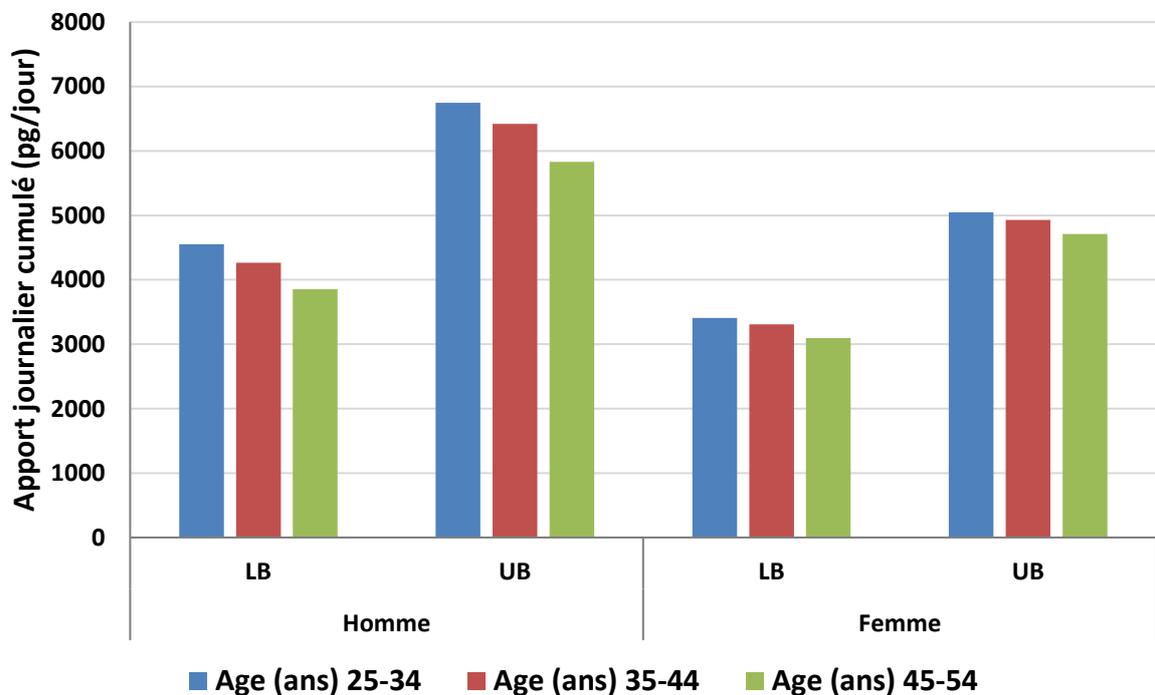


Figure 50 : Apport journalier cumulé en Dechloranes ($\Sigma_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé selon la tranche d'âge et par genre pour la population beyrouthine.

4.3.3.3. Comparaison entre la France et le Liban

Sur la base de ces premiers résultats concernant l'estimation de l'apport journalier pour la population française et libanaise, nous avons constaté que chaque beyrouthin ingère en moyenne un taux de Dechloranes légèrement plus élevé qu'un français (3,7-5,6 vs 1,4-3,3 ng/jour, LB-UB) (**Figure 51**). Le DP et le Dec-603 ressortent comme les composés majoritaires en France alors qu'il s'agit du DP et du Dec-602 au Liban (**Figure 51**). Là encore, comme pour la contamination environnementale des eaux douces de surface, la contamination en Dec-603 apparaît comme une singularité de la France. Ce résultat d'exposition externe au Dec-603 par voie alimentaire apparaît en adéquation avec l'étude de Brasseur et al. (2014) qui objectivise l'exposition interne de 48 bisontins (France) à ce composé avec 2,61 ng/g MG (sérum) en moyenne contre seulement de 0,09 ng/g MG chez 42 munichois (Allemagne) dans la même étude.

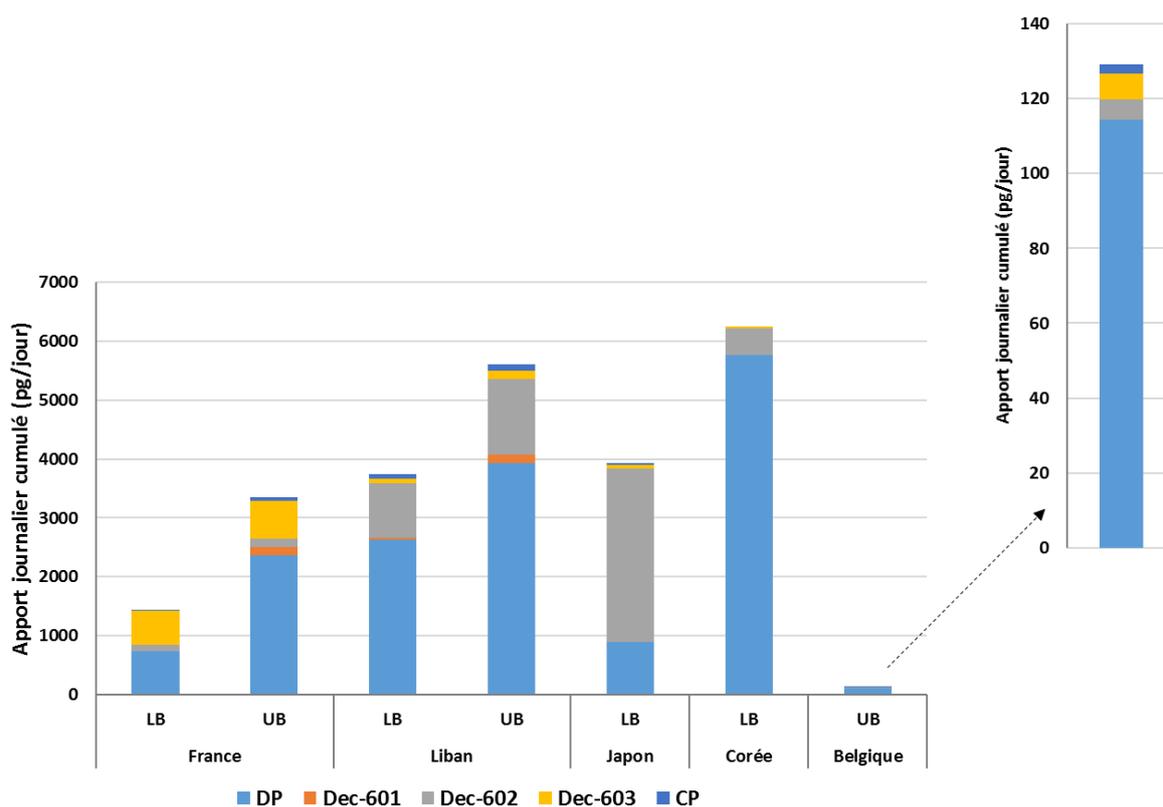


Figure 51 : Comparaison des apports journaliers des matrices d'intérêts estimés pour la France et le Liban, et rapportés dans la littérature (Kim et al., 2014; L'Homme et al., 2015 ;Yasutake et al., 2018).

Plus en détail, les profils d'apport journalier en Dechloranes sont variables d'un groupe à l'autre et entre les deux pays (**Figure 52** et **Figure 53**). Il ressort que la viande est un fort contributeur à l'apport journalier dans les deux pays, alors que les poissons, fruits de mer et œufs sont de faibles contributeurs. Une différence importante existe par rapport au profil des produits laitiers dans les deux pays. Pour les poissons, les apports journaliers en Dechloranes pour les deux pays sont proches. La contribution des huiles végétales (olive, sésame) à l'apport journalier au Liban montre qu'il est pertinent de ne pas se limiter aux DAOA pour étudier l'exposition alimentaire aux Dechloranes. Pour les deux pays, l'apport journalier en DP provient environ pour moitié des viandes, son caractère ubiquitaire apparaissant toutefois dans les autres catégories.

Pour la France, l'apport journalier en Dec-603 provient essentiellement des DAOA terrestres (viande d'ovin et œuf), lait exclus. Contrairement à nos résultats, l'Homme et al. (2015) ont rapporté des niveaux et des apports journaliers en Dechloranes dans les échantillons d'œuf (34,1 pg/jour) comparables à ceux obtenus dans les échantillons de viande de poulet (50 pg/jour). La question du processus de contamination des œufs reste ouverte.

Concernant le poisson, contrairement à ce qui a été observé pour la contamination environnementale des eaux douces de surface, il n'y a pas de contamination notable en Dec-603. Il est très probable qu'aucun des poissons analysés n'ai été collecté dans les eaux de surface de France, une contamination globale et spécifique du territoire métropolitain restant plausible.

Pour le Liban, l'apport journalier en Dec-602 provient avant tout des produits laitiers (*labné* suivi du yaourt). Les niveaux apportés par le lait sont très faibles par rapport à ceux des produits transformés (*labné* et yaourt) et du même ordre de grandeur que ceux pour la France.

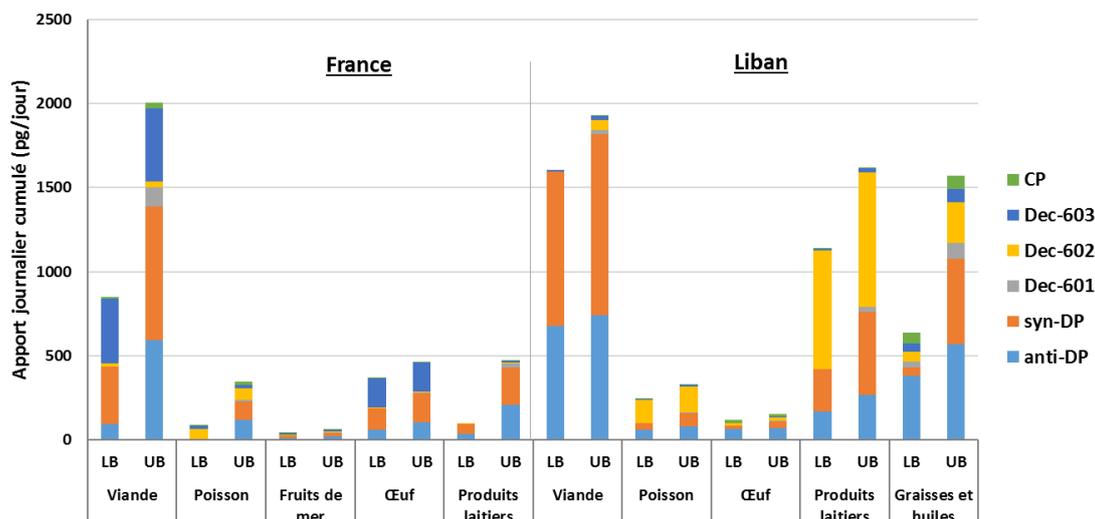


Figure 52 : Apport journalier en Dechloranes ($\Sigma_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé par groupe d'aliments et selon le scénario pour la France et le Liban.

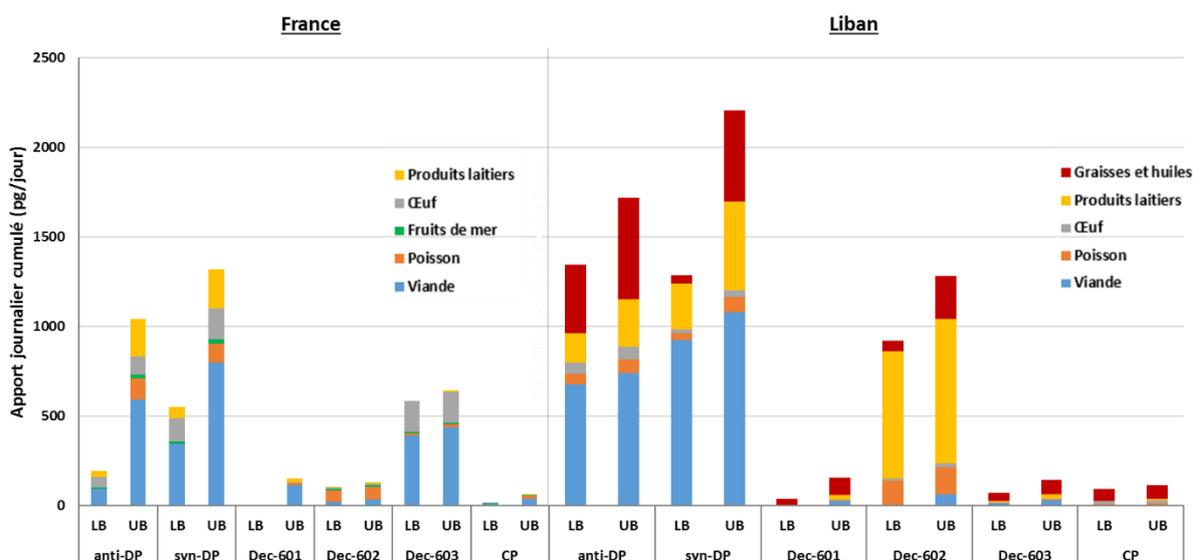


Figure 53 : Apport journalier en Dechloranes ($\Sigma_6\text{Dec}$, pg/jour), estimé par matrice et selon le scénario pour la France et le Liban.

4.3.3.4. Comparaison avec la littérature

Dans la littérature, notre attention s'est portée sur 4 articles parus dans des journaux à comité de lecture qui décrivent des calculs d'apport journalier en Dechloranes pour les populations japonaise, sud-coréenne et belge (Kakimoto et al., 2012 ; Kim et al., 2014 ; L'Homme et al., 2015 ; Yasutake et al., 2018) et une communication par affiche au congrès Dioxin 2018 dédié aux POP halogénés (Yasutake et al., 2018). La comparaison entre ces différentes études est

délicate de par les types des matrices et le nombre d'échantillons analysés, les habitudes alimentaires de chaque pays et les méthodes de calcul (en LB ou UB). Néanmoins, le **Tableau 39** reprend les éléments majeurs, ainsi que la **Figure 51** qui compare l'apport journalier cumulé pour presque les groupes de matrices similaires.

Tableau 39 : Apports journaliers cumulés en Dechloranes observés pour la France, le Liban et dans la littérature. *converti en considérant un poids moyen d'un japonais adulte égal à 58 kg (d'après www.e-stat.go.jp/stat-search/file-download?statInfId=000031632195&fileKind=0, le 18 février 2018) ; Souligné : groupe apparaissant comme le plus fort contributeur.

Pays	Apport journalier (ng/jour)	Scénario	Composés ciblés	Groupes d'aliments	% bol alimentaire	Référence
France	1,4-3,3	LB-UB	DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP	<u>Viande</u> , poisson, fruits de mer, œuf, produits laitiers (n=117)	12%	Présente étude
Liban	3,7-5,6	LB-UB	DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603 et CP	<u>Viande</u> , poisson, œuf, produits laitiers, graisses et huiles (n=58)	21%	Présente étude
Japon	0,139* (2,4 pg/kg p.c.)	LB	DP	Poisson (n=20)	N/A	Kakimoto et al., 2012
Japon	7,6 ng/jour	LB	Mirex, DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603, Dec-604 et CP	Viande, <u>poisson et fruit de mer</u> , légume, fruit, œuf, produits laitiers, céréale, graisses et huiles, riz, sucre, boisson, assaisonnement (n=166)	N/A	Yasutake et al., 2018
Corée du Sud	11,7 ng/jour	LB	DP, Dec-602 et Dec-603	Légume, <u>graine</u> , fruit, vermicelle, algue, condiment, graisse végétale, œuf, produits laitiers, viande, poisson (n=175)	43,70%	Kim et al., 2014
Belgique	0,136 ng/jour	UB	DP, Mirex, Dec-602, Dec-603 et CP	Saumon, <u>viande (poulet et porc)</u> , œuf, lait (n=48)	N/A	L'Homme et al., 2015

Pour le Japon, Kakimoto et al. (2012), ont estimé l'apport journalier en DP à partir des échantillons de poisson uniquement, au même ordre de grandeur que celui estimé pour la population beyrouthine et pour la population Française. Les poissons contribuent approximativement à 6% de l'apport journalier total pour les populations française et beyrouthine. Cette étude est considérée peu robuste, le calcul étant basé sur un nombre et un type d'échantillons limités. La seconde étude concernant la population Japonaise (Yasutake et al., 2018) couvre une large partie du bol alimentaire stratifié en 13 groupes d'aliments préparés tels que consommés et un panel de Dechloranes dans un scénario LB. L'apport journalier estimé dû au poisson est sensiblement supérieur, à 3,1 ng/jour, dominé par le Dec-602. Dans l'ensemble, l'apport journalier estimé atteint 7,6 ng/jour, ce qui est légèrement supérieur à ce qui a été estimé pour les populations française (1,4 ng/jour) et libanaise (3,7 ng/jour). L'apport journalier en DP de la population Japonaise obtenu par l'étude récente (0,204 ng/jour) est de même ordre de grandeur que celui rapporté par l'étude plus ancienne (0,139 ng/jour). Comme illustré par la **Figure 51**, le profil en Dechloranes obtenu pour le Japon, avec une prédominance du Dec-602, est différent de ceux des autres pays. Non seulement ce groupe d'aliments apparaît plus contaminé en Dec-602 pour le Japon qu'ailleurs, mais les quantités ingérées sont également plus élevées au Japon en comparaison des autres pays. Cela peut notamment signifier que le Dec-602 est peut-être plus utilisé dans ce pays que dans les autres.

Pour la Corée du Sud, les échantillons sélectionnés par Kim et al. (2014) couvrent également plus que les seuls DAOA, représentant 43,7% du bol alimentaire de la population adulte. Ces échantillons n'ont pas été cuisinés et les résultats ont été exprimés suivant un scénario LB. L'apport journalier cumulé en DP, Dec-602 et Dec-603 pour les groupes d'aliments communs dans cette étude est plus élevé que ceux obtenus pour les populations française et beyrouthine. Le profil obtenu par les échantillons de Corée ressemble beaucoup à celui du Liban dont une prédominance du DP suivi du Dec-602 par rapport aux autres composés (**Figure 51**).

En se basant sur les habitudes alimentaires de la population belge obtenues suite à la dernière enquête sur l'alimentation et sur les tables de composition des aliments en Belgique, L'Homme et al. (2015) ont estimé que la population belge ingère 136,2 pg/jour des Dechloranes (DP, Mirex, Dec 602, Dec 603 et CP) (scénario UB avec des LOQ qui varient entre 0,43 et 1,20 pg/g MG pour le Dec-602, entre 0,07 et 0,28 pg/g MG pour le Dec-603 et le CP, entre 1,93 et 5,42 pg/g MG pour l'*anti*-DP et entre 7,14 et 20 pg/g MG pour le *syn*-DP selon les différents types

de matrices). Étonnamment, ce niveau est inférieur d'au moins un ordre de grandeur à ce qui a été estimé pour la Corée du Sud, le Japon, le Liban et la France. En général, le profil en Dechloranes rapporté dans l'étude de L'Homme et al. (2015) est similaire à celui obtenu pour France avec une dominance de DP et la présence du Dec-603 (**Figure 51**). Dans cette étude, seuls 5 échantillons de DAOA (saumon, poulet, porc, œuf et lait) ont été considérés, ce qui rend la portée des résultats relativement limitée mais soulève la question de l'importance de la différence avec la France, un pays frontalier.

En résumé, il apparaît bien que l'apport journalier en Dechloranes rapporté en Corée du Sud est plus important que ceux des autres pays, avec un profil qui ressemble à celui du Liban. La Belgique présente l'apport journalier le plus faible entre ces 5 pays mais avec un profil qui ressemble à celui de la France. Le Japon présente un profil différent des autres pays avec une dominance du Dec-602.

A noter qu'en l'absence de VTR, ces études d'exposition alimentaire ne permettent pas de qualifier ou de quantifier un risque pour la santé humaine et conclure quant au risque toxicologique.

4.4. CONCLUSION

Ce dernier chapitre a permis de présenter les résultats de l'application de la stratégie analytique finalisée dans le cadre de ce travail de thèse. Pour ce faire 5 campagnes d'analyse dédiées à des échantillons biotiques environnementaux et alimentaires ont été réalisées. Les performances de la méthode ont d'abord été évaluées. Les courbes d'étalonnage ont été jugées linéaires sur une large plage dynamique, suivant des RRF dont les CV sont apparus excellents pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-602, les 3 composés bénéficiant d'un isotopologue comme étalon interne, satisfaisants pour le Dec-601 et le CP et un peu plus important pour le Dec-603. Les rendements d'extraction et de purification ont été acceptables. En termes de sensibilité, les seuils atteints sont suffisants, même avec une légère contamination procédurale dégradant la sensibilité brute pour l'*anti*-DP et le *syn*-DP, obligeant à établir une stratégie d'expression des résultats en conséquence. Enfin, du point de vue de l'exactitude, un étalonnage externe au travers d'un essai inter-laboratoire fait défaut. Néanmoins, sur la base de données internes, nous avons estimé l'incertitude élargie à environ 20% pour l'*anti*-DP, le *syn*-DP et le Dec-602, 40% pour le Dec-601 et le CP, et 75% pour le Dec-603.

Puis, nous avons présenté les premières données de prévalence en Dechloranes concernant la contamination environnementale des eaux de surface en France au travers d'échantillons de silure, ainsi que des aliments pour 3 zones géographiques (France, Liban et Afrique subsaharienne), fournissant une base de discussion dans un contexte d'évaluation de l'exposition.

Il est apparu que, quoique les niveaux soient relativement faibles (de l'ordre de quelques pg/g PF), dans l'ensemble, les Dechloranes sont une famille de composés ubiquitaires dans les eaux de surface en France métropolitaine. Le profil de contamination comprend majoritairement les isomères du DP, le Dec-602 et le Dec-603, la présence de ce dernier semblant être une particularité du profil français. L'apport journalier par l'alimentation a été estimé à partir des niveaux de contamination observés dans des DAOA, voire des huiles végétales, représentatifs d'une partie du bol alimentaire quotidien, ce qui sous-estime vraisemblablement l'exposition alimentaire. Néanmoins, le niveau est apparu plus faible pour la population française (1,4 à 3,3 ng/jour en moyenne) que pour la population beyrouthine (3,7 à 5,6 ng/jour). Ces valeurs sont globalement plus faibles que celles rapportées dans la littérature pour les populations japonaise (7,6 ng/jour) et sud-coréenne (11,7 ng/jour) mais posent désormais la question de l'impact sur la santé humaine. Si le DP est le plus fort contributeur, le Dec-603 arrive en second pour la France, alors qu'il s'agit du Dec-602 pour le Liban. Cette singularité française pour le Dec-603 est corroborée par les données de contamination environnementale dans la Garonne produites par Lauzent et al. (2017) et des données d'imprégnation humaine produites par Brasseur et al. (2014), ce qui soulève la question de l'utilisation et/ou de la présence du Dec-603 dans cette zone géographique plus que dans les autres. A partir des analyses réalisées sur les échantillons, le travail d'estimation de l'exposition alimentaire sera prochainement étendu à quatre pays d'Afrique subsaharienne.

Enfin, le manque de disponibilité de VTR ne permet pas de mener l'exercice d'évaluation du risque par exposition alimentaire de la population à son terme.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'utilisation massive de retardateurs de flamme (RF), en particulier les RF halogénés, dans de nombreux produits synthétiques, génère, en contrepartie du gain en terme de sécurité contre les incendies, un problème de contamination de l'environnement (stabilité, bioaccumulation, toxicité). En effet, ces substances peuvent être transmises dans l'environnement et transférées le long de la chaîne alimentaire, ce qui, pose par suite la question d'éventuelles répercussions sur la santé humaine.

Les Dechloranes, une famille de RF halogénés jusqu'aujourd'hui non réglementée, ont remplacé le Mirex (un composé inscrit à la Convention de Stockholm) depuis les années 1970 pour une partie de ses applications. Le Dechlorane Plus (DP) est le composé émergent le plus analysé, et a été détecté pour la première fois dans l'environnement en 2006 dans des échantillons d'air, de sédiments et de poissons dans la région des grandes Lacs en Amérique du Nord. Depuis, d'autres données de prévalence relatives à divers compartiments environnementaux, du biote (aquatique et terrestre), d'aliments et humains ont été rapportées à des niveaux plus élevés dans les zones urbaines (à proximité des usines ou des sites de recyclage des déchets électroniques), dans les pays asiatiques et en Amérique de Nord que dans les zones rurales et dans les pays Européens. Selon la littérature, les Dechloranes sont sujets au transport sur de longues distances dans l'environnement et entrent en contact avec les populations *via* leurs chaînes alimentaires.

Actuellement, les données disponibles dans la littérature sur la toxicité des Dechloranes sont rares et incomplètes. Des études complémentaires sont souhaitables pour étudier la toxicité de ces composés à long terme afin d'explorer en profondeur les mécanismes d'action, les effets toxicologiques sur la santé humaine ainsi que les seuils d'alerte toxicologique. De plus, d'après la littérature, quatre potentiels produits de dégradation du DP ont été identifiés, l'*anti*-Cl10-DP, l'*anti*-Cl11-DP, le 1,5-DPMA et le 1,3-DPMA. L'identification des métabolites ainsi que leurs prévalences et leurs distributions dans les matrices biologiques complexes pourront faire l'objet de recherches s'inscrivant dans la continuité de notre étude.

En dépit du défaut de données de caractérisation du risque, il s'est avéré nécessaire de faire un premier état des lieux sur les niveaux de prévalence environnementale et d'exposition alimentaire aux Dechloranes afin d'avancer vers une évaluation complète du risque.

L'ensemble des informations recueillies au cours de notre recherche bibliographique nous a apporté le support nécessaire pour planifier les grands axes de travail de cette thèse.

Dans un premier temps, nous avons cherché à développer une stratégie analytique robuste et efficace pour l'analyse de 8 composés de Dechloranes (*anti*-DP, *syn*-DP, Dec-601, Dec-602, Dec-603, Dec-604, Dec-604CB et CP) à l'état de trace (de l'ordre de pg/g PF) dans des matrices biologiques complexes telles que les poissons et autres denrées alimentaires d'origine animale (viande, œuf, produits laitiers, ...).

Compte tenu de la nature des composés d'intérêts, nous nous sommes orientés vers une instrumentation basée sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Nous avons testé différents modes d'ionisation : l'EI, la NCI et l'APCI(+), ce dernier n'ayant récemment été décrit pour le DP dans la littérature. Après l'interprétation des différents spectres de masse (full scan), nous avons confirmé que par EI l'ion moléculaire est formé dans un état excité et a tendance à se fragmenter dans la source, impliquant souvent la formation de l'ion $[C_5Cl_6]^+$ comme pic de base, ce qui limite la sélectivité et la spécificité. Par NCI, les spectres de masses n'étaient pas suffisamment satisfaisants du point de vue de la spécificité pour la caractérisation des composés d'intérêts. Par APCI, la fragmentation est apparue plus réduite que par EI, l'ion moléculaire figurant comme ion majoritaire pour la plupart des composés. Malgré la spécificité de l'APCI, nous avons retenu l'EI pour la suite de notre travail en raison d'une instabilité notamment sur matrice. Une méthode SRM a été développée et optimisée en basse résolution dans un premier temps puis transposée en haute résolution en raison d'un effet d'interférence des composés marqués sur les signaux des composés natifs, et *vice versa*. En termes de perspectives pour cette partie instrumentale, il serait intéressant de rechercher une solution au problème d'instabilité rencontrée en GC-APCI-MS/MS, (i) en revenant sur le degré de purification des extraits injectés qui était, avec le recul, insuffisant au regard du phénomène de compétition pour l'ionisation et (ii) en bénéficiant d'un système de dernière génération assurant une meilleure maîtrise des conditions de la ligne de transfert (température).

Nous avons étudié la rétention des Dechloranes sur les trois colonnes chromatographiques (ZB-5HT, Rtx-1614 et DB-5MS) les plus utilisées dans la littérature afin d'aboutir à une séparation optimale des 8 composés d'intérêts. Nous avons rencontré une co-élution du *syn*-DP et du Dec-601 sur les 3 colonnes testées. En effet, à notre connaissance, aucun auteur ne s'est intéressé au Dec-601. Dès lors sa présence pourrait être confondue avec celle de *syn*-DP, notamment lors d'une analyse par EI. En conséquence, les niveaux de prévalence en *syn*-DP publiés dans la littérature pourraient être biaisés par une interaction du Dec-601. Nous avons

alors évalué une quatrième colonne, qui présente une phase stationnaire légèrement plus polaire que les 3 précédentes, la HT8-PCB. Les résultats obtenus avec cette colonne sont apparus satisfaisants en termes de séparation de tous les composés d'intérêts. Cette performance nous a permis d'observer pour la première fois le Dec-601 dans un échantillon d'origine biotique, une huile de sésame, à hauteur de 11,9 pg/g.

Pour la suite de notre travail, le nombre de composés d'intérêts suivis a été réduit de 8 à 6. Nous avons écarté le Dec-604 et le Dec-604CB en raison de performances insuffisantes en termes de sensibilité et de linéarité. Une perspective sera d'adapter la méthode pour inclure ces deux composés dans le profil de Dechloranes.

Après l'optimisation de la partie instrumentale, nous avons orienté notre travail vers le deuxième objectif qui était de déterminer la méthode de purification et d'extraction la plus convenable, avec les meilleurs taux de rendement, en minimisant les volumes des solvants utilisés ainsi que le temps de traitement de l'échantillon.

Pour la purification, nous avons testé dans un premier temps des méthodes d'analyse multi-résidus déjà en vigueur au LABERCA, pour plusieurs familles de contaminants de l'environnement (PCDD/F et PCB), afin de pouvoir produire un large panel des résultats à partir d'une seule prise d'essai. Aucune méthode testée ne s'est révélée adaptée aux Dechloranes. Pour cette raison nous avons orienté notre choix vers un développement spécifique afin d'aboutir à une purification efficace et des rendements d'extraction satisfaisants.

En nous inspirant de la littérature, nous avons testé et optimisé plusieurs techniques de purification avant de retenir une colonne de silice multicouches (neutre, basique, acide), qui s'est avérée efficace pour détruire les lipides, suivie d'une purification par CPG afin d'atteindre un niveau suffisant de purification, notamment sur matrice biologiques complexes.

Pour l'extraction, nous avons retenu la méthode optimisée au LABERCA pour un panel de POP (PLE avec un mélange toluène/acétone), qui s'est avérée efficace et compatible avec nos objectifs, sans aucune modification.

Les Dechloranes sont des composés ubiquitaires. Notamment présents dans l'environnement de laboratoire, ils posent une problématique de contamination procédurale. En effet, chaque étape et intrant de la procédure peut être considérée comme source potentielle de contamination qu'il convient de minimiser et maîtriser. Nous avons proposé une série de précautions

spécifiques, complémentaires aux précautions usuelles mises en œuvre pour les contaminants environnementaux et les RF bromés, afin de limiter l'impact sur les performances de la méthode, d'éviter une surestimation des résultats et de parvenir par la suite à une quantification la plus juste possible. Pour cette raison, nous avons envisagé d'introduire systématiquement au moins un blanc analytique dans chaque série d'analyse. Nous avons détecté des traces d'*anti*-DP et de *syn*-DP et rarement de Dec-602 dans les différentes séries de blancs.

Après le développement et l'optimisation de la méthode finalisée, nous avons évalué les principaux critères de performance afin de définir précisément son domaine d'application. Les courbes d'étalonnage sont linéaires et satisfaisantes suivant les RRF dont les CV sont apparus très satisfaisants (selon le règlement 2017/771/EC) pour les composés bénéficiant d'un isotopologue comme étalon interne (*anti*-DP, *syn*-DP et Dec-602), moyens pour le Dec-601 et le CP et relativement élevé pour le Dec-603. Les rendements d'extraction et de purification ont été jugés acceptables pour toutes les analyses. Des échantillons de contrôle qualité ont été analysés au cours de chaque campagne d'analyse afin d'assurer la justesse et la fidélité de la méthode. D'après les résultats obtenus, la méthode finalisée est apparue fidèle, exacte et prometteuse pour une application à des échantillons réels avec cependant une réserve pour le Dec-603 qui présente une incertitude élargie estimée à 75%. Il reste comme perspectives pour cette partie (i) de disposer des étalons internes marqués pour le Dec-601, le CP et surtout pour le Dec-603, afin améliorer l'exactitude et par la suite l'incertitude et (ii) de parachever le travail de validation du protocole selon les guides reconnus dans le domaine de l'analyse chimique des matrices biologiques complexes.

L'objectif principal de cette étude était de produire des données utiles aux agences en charge de la sécurité sanitaire en évaluant les niveaux de prévalence en Dechloranes dans différentes matrices (poissons, denrée alimentaire), visant à contribuer à l'évaluation de l'exposition de l'Homme à ces contaminants persistants.

La méthode développée a été appliquée à 378 échantillons de poissons (n=145) et d'aliments (DAOA et des huiles végétales), collectés en France (n=117), au Liban (n=58) et dans 4 pays d'Afrique subsaharienne (n=58). Globalement, il est apparu que pour tous les types d'échantillons analysés les niveaux de concentrations sont relativement faibles (de l'ordre de quelques dizaines à centaines de pg/g PF) par rapport à ce qui a été rapporté dans différents pays (Asiatique et Amérique du Nord) et sites (urbains, industriels et sites de recyclage de déchets électroniques), bien qu'ils soient proches à ceux rapportés par d'autres études européennes. Les

profils de contamination comprennent majoritairement les isomères du DP, le Dec-602 et le Dec-603 avec une particularité pour la France où le Dec-603 acquiert une place importante et particulière conformément à ce qui a été décrit dans la littérature pour ce pays. En se basant sur différentes études de consommation journalière, ces mesures de prévalence ont été exploitées pour une évaluation de l'exposition des populations française et libanaise à ces contaminants, ce qui n'a, à notre connaissance, pas été réalisé à ce jour.

Plusieurs perspectives restent en suspens dans cette partie, (i) appliquer la méthode sur des échantillons de denrée alimentaire non lipidique et (ii) adapter la méthode pour une application sur des échantillons humains (sérum, cordon ombilical, lait maternel, tissu adipeux) afin d'estimer les niveaux d'imprégnation humaine intégrant les différentes voies d'expositions (alimentaire, respiratoire, ...), surtout pour les populations française et libanaise afin de compléter les informations produites.

Enfin, outre les perspectives à long terme évoquées dans la présente conclusion générale pour chaque chapitre, la dissémination à court terme du travail réalisé est proposée à plusieurs niveaux, auprès de la communauté scientifique ainsi qu'auprès des autorités compétentes.

1- Dissémination auprès de la communauté scientifique. En plus du premier article issu de ce travail et valorisant la méthode développée et les résultats obtenus pour la prévalence des Dechloranes dans les poissons d'eaux de surface en France, deux autres articles sont pressentis dans un futur proche :

- Un article dédié à l'exposition alimentaire au Liban, *Assessment of Dechlorane Plus and related compounds in foodstuffs and estimates of daily intake from Lebanese population*, qui est en cours de préparation pour être soumis à la revue *Chemosphere* ;
- Un article en collaboration avec un autre doctorant (une thèse de la FAO), dédié à l'exposition alimentaire en Afrique subsaharienne, en cours de préparation.

2- Dissémination auprès des autorités compétentes au niveau français :

- Gestionnaire du risque (Direction Générale de l'Alimentation, DGAl) pour faire savoir que les Dechloranes sont présents dans les matrices alimentaires en France. Ce faisant, nous suggérons la mise en place d'un plan expérimental sur le territoire pour approfondir les connaissances sur la prévalence des Dechloranes dans les aliments. En conséquence, il sera nécessaire de faire accréditer la méthode (ISO 17025) en s'appuyant sur des données de validation complètes.

- Evaluation du risque (Anses) pour réflexion sur l'inclusion des Dechloranes dans le prochain EAT. En conséquence, l'Anses devra également collecter les données nécessaires à l'établissement des VTR.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 2002/657/EC, Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. Official Journal of the European Communities, 17.8.2002, L221, 8-36.
- 850/2004/EC, Regulation of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on persistent organic pollutants and amending Directive 79/117/EEC. Official Journal of the European Union, 30.4.2004, L158, 7-48.
- 1907/2006/EC, Regulation of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC, Official Journal of the European Union, 30.12.2006.
- 589/2014/EU, Commission Regulation of 2 June 2014 laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 252/2012. Official Journal of the European Union, 3.6.2014, L164, 18-40.
- 2017/771/EU, Commission Regulation of 3 May 2017 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards the methods for the determination of the levels of dioxins and polychlorinated biphenyls. Official Journal of the European Union, 4.5.2017, L115, 22-42.
- Abdel Malak I., Cariou R., Vénisseau A., Dervilly-Pinel G., Jaber F., Babut M., Le Bizec B., 2018. Occurrence of Dechlorane Plus and related compounds in catfish (*Silurus* spp.) from rivers in France. *Chemosphere* 207, 413-420. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.101.
- Afssa, 2008. Appui scientifique et technique de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments relative au plan d'échantillonnage national des PCB dans les poissons de rivière : proposition de méthodologie. Report No. Saisine n° 2008-SA-0019, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (Afssa), Maisons-Alfort.
- Afssa, 2009. Avis de l'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la détermination de valeurs seuil en PCB-NDL comme outil d'appréciation du risque de contamination des poissons d'eau douce et de mer. Afssa, Maisons-Alfort, p. 18.
- Alomar, H., Lemarchand, C., Rosoux, R., Vey, D., Berny, P., 2016. Concentrations of organochlorine compounds (pesticides and PCBs), trace elements (Pb, Cd, Cu, and Hg), ¹³⁴Cs, and ¹³⁷Cs in the livers of the European otter (*Lutra lutra*), great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and European catfish

- (*Silurus glanis*), collected from the Loire River (France). *European Journal of Wildlife Research* 62, 653-661. DOI: 10.1007/s10344-016-1038-5.
- Aznar-Alemany, Ò., Trabalón, L., Jacobs, S., Barbosa, V.L., Tejedor, M.F., Granby, K., Kwadijk, C., Cunha, S.C., Ferrari, F., Vandermeersch, G., Sioen, I., Verbeke, W., Vilavert, L., Domingo, J.L., Eljarrat, E., Barceló, D., 2016. Occurrence of halogenated flame retardants in commercial seafood species available in European markets. *Food and Chemical Toxicology* 1-13. DOI: 10.1016/j.fct.2016.12.034.
- Babut, M., Miege, C., Villeneuve, B., Abarnou, A., Duchemin, J., Marchand, P., Narbonne, J.F., 2009. Correlations between dioxin-like and indicators PCBs: potential consequences for environmental studies involving fish or sediment. *Environmental Pollution* 157, 3451-3456. DOI: 10.1016/j.envpol.2009.06.016.
- Barón, E., Eljarrat, E., Barceló, D., 2012. Analytical method for the determination of halogenated norbornene flame retardants in environmental and biota matrices by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1248, 154-160. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.05.079.
- Barón, E., Santín, G., Eljarrat, E., Barceló, D., 2014. Occurrence of classic and emerging halogenated flame retardants in sediment and sludge from Ebro and Llobregat river basins (Spain). *Journal of Hazardous Materials* 265, 288-295. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.10.069.
- Bichon, E., 2016. Challenge de l'analyse de dangers chimiques à l'état d'ultra-traces en matrices biologiques complexes. Thèse de doctorat de chimie, Université Bretagne Loire.
- Brasseur, C., Pirard, C., Scholl, G., De Pauw, E., Viel, J.F., Shen, L., Reiner, E.J., Focant, J.F., 2014. Levels of Dechloranes and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from France. *Environment International* 65, 33-40. DOI: 10.1016/j.envint.2013.12.014.
- Briels, N., Løseth, M.E., Ciesielski, T.M., Malarvannan, G., Poma, G., Kjærøvik, S.A., Léon, A., Cariou, R., Covaci, A., Jaspers V.L.B., 2018. *In ovo* transformation of two emerging flame retardants in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 149, 51-57. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.10.069.
- Brock, W.J., Schroeder, R.E., McKnight, C.A., VanSteenhouse, J.L., Nyberg, J.M., 2010. Oral repeat dose and reproductive toxicity of the chlorinated flame retardant Dechlorane Plus. *International Journal of Toxicology* 29, 582-93. DOI: 10.1177/1091581810384154.

- CEFIC-EFRA. European Chemical Industry Council – European Flame Retardant Association. Le 18 Février 2016 sur URL, www.cefic-efra.com.
- CEFIC-EFRA. European Chemical Industry Council – European Flame Retardant Association. Market statistics. Le 26 mai 2003 sur URL http://www.cefic-efra.org/code/market_stat.html.
- Chabot-Giguère, B., Letcher, R.J., Verreault, J., 2013. *In vitro* biotransformation of decabromodiphenyl ether (BDE-209) and Dechlorane Plus flame retardants: A case study of ring-billed gull breeding in a pollution hotspot in the St. Lawrence River, Canada. *Environment International* 55, 101-108. DOI: 10.1016/j.envint.2013.02.008.
- Chen, S.J., Tian, M., Wang, J., Shi, T., Luo, Y., Luo, X.J., Mai, B.X., 2011. Dechlorane Plus (DP) in air and plants at an electronic waste (e-waste) site in South China. *Environmental Pollution* 159, 1290-1296. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.01.026.
- Chen, C.L., Tsai, D.Y., Ding, W.H., 2014. Optimisation of matrix solid-phase dispersion for the determination of Dechlorane compounds in marketed fish. *Food Chemistry* 164, 286-292. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.035.
- Chen, K., Zheng, J., Yan, X., Yu, L., Luo, X., Peng, X., Yu, Y., Yang, Z., Mai, B., 2015. Dechlorane Plus in paired hair and serum samples from e-waste workers: Correlation and differences. *Chemosphere* 123, 43-47. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.11.058.
- Chen, X., Dong, Q., Chen, Y., Zhang, Z., Huang, C., Zhu, Y., Zhang, Y., 2017. Effects of Dechlorane Plus exposure on axonal growth, musculature and motor behavior in embryo-larval zebrafish. *Environmental Pollution* 224, 7-15. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.03.011.
- Crump, D., Chiu, S., Gauthier, L.T., Hickey, N.J., Letcher, R.J., Kennedy, S.W., 2011. The effects of Dechlorane Plus on toxicity and mRNA expression in chicken embryos: A comparison of *in vitro* and *in ovo* approaches. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 154, 129-134. DOI: 10.1016/j.cbpc.2011.04.005.
- Dang, V.D., Walters, D.M., Lee, C.M., 2010. Transformation of Chiral Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in a Stream Food Web. *Environmental Science & Technology* 44, 2836-2841. DOI: 10.1021/es902227a.
- De La Torre, A., Alonso, M.B., Martínez, M.A., Sanz, P., Shen, L., Reiner, E.J., Lailson-Brito, J., Torres, J.P.M., Bertozzi, C., Marigo, J., Barbosa, L., Cremer, M., Secchi, E., Malm, O., Eljarrat, E., Barceló, D., 2012. Dechlorane-related compounds in franciscana dolphin (*Pontoporia blainvillei*)

- from southeastern and southern coast of Brazil. *Environmental Science & Technology* 46, 12364-12372. DOI: 10.1021/es302934p.
- Dou, J., Jin, Y., Li, Y., Wu, B., Li, M., 2015. Potential genotoxicity and risk assessment of a chlorinated flame retardant, Dechlorane Plus. *Chemosphere* 135, 462-466. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.12.066.
- Eaufrance, Le 21 janvier 2018 sur <http://www.pollutions.eaufrance.fr/pcb/>, in French.
- ECHA, 2018. Inclusion of substances of very high concern in the Candidate List for eventual inclusion in Annex XIV, ED/01/2018, Decision of the European Chemicals Agency, published on 03/01/2018.
- EPA, U.S. Environmental Protection Agency: <https://www.epa.gov/saferchoice/partnership-evaluate-flame-retardant-alternatives-decabde/>.
- EPA 8280B, Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD) and polychlorinated dibenzofurans (PCDF) by high-resolution gas chromatography/ low-resolution mass spectrometry (HRGC/LRMS), Revision 2 February 2007.
- Fang, M., Kim, J.C., Chang, Y.S., 2014. Investigating Dechlorane Plus (DP) distribution and isomer specific adsorption behavior in size fractionated marine sediments. *Science of the Total Environment* 481, 114-120. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.082.
- Feo, M.L., Barón, E., Eljarrat, E., Barceló, D., 2012. Dechlorane Plus and related compounds in aquatic and terrestrial biota: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404, 2625-2637. DOI: 10.1007/s00216-012-6161-x.
- Flameretardants online. Le 18 février 2018 sur URL, <https://www.flameretardants-online.com/>.
- Fromme, H., Cequier, E., Kim, J.T., Hanssen, L., Hilger, B., Thomsen, C., Chang, Y.S., Völkel, W., 2015. Persistent and emerging pollutants in the blood of German adults: Occurrence of Dechloranes, polychlorinated naphthalenes, and siloxanes. *Environment International* 85, 292-298. DOI: 10.1016/j.envint.2015.09.002.
- Giulivo, M., Capri, E., Kalogianni, E., Milacic, R., Majone, B., Ferrari, F., Eljarrat, E., Barceló, D., 2017. Occurrence of halogenated and organophosphate flame retardants in sediment and fish samples from three European river basins. *Science of the Total Environment journal* 586, 782-791. DOI: 10.1016/J.Scitotenv.2017.02.056.

- Gong, N., Shao, K., Han, X., Zhang, Y., Sun, Y., 2018. Enrichment and physiological responses of Dechlorane plus on juvenile marine macroalgae (*Ulva pertusa*). *Chemosphere* 205, 594-600. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.04.137.
- Guerra, P., Fernie, K., Jiménez, B., Pacepavicius, G., Shen, L., Reiner, E., Eljarrat, E., Barceló, D., Alae, M., 2011. Dechlorane plus and related compounds in peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs from Canada and Spain. *Environmental Science & Technology* 45, 1284-1290. DOI: 10.1021/es103333j.
- Halloum, W., 2017. Développement d'une stratégie analytique dédiée aux esters organophosphorés. Contribution à l'évaluation de l'exposition de l'homme à ces contaminants ré-émergents via l'alimentation. Thèse de doctorat de chimie, Université Bretagne Loire et Université Libanaise.
- He, S., Li, M., Jin, J., Wang, Y., Bu, Y., Xu, M., Yang, X., Liu, A., 2013. Concentrations and trends of halogenated flame retardants in the pooled serum of residents of Laizhou Bay, China. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32, 1242-1247. DOI: 10.1002/etc.2172.
- Hoh, E., Zhu, Hites, R.A., 2006. Dechlorane Plus, a Chlorinated Flame Retardant, in the Great Lakes. *Environmental Science & Technology* 40, 1184-1189. DOI: 10.1021/es051911h.
- Houde, M., Berryman, D., de Lafontaine, Y., Verreault, J., 2014. Novel brominated flame retardants and dechloranes in three fish species from the St. Lawrence River, Canada. *Science of the Total Environment journal* 479-480, 48-56. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.105.
- INCA 2, étude individuelle nationale des consommations alimentaires 2, 2006-2007. Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments (Afssa), Septembre 2009, version 2.
- INCA 3, étude individuelle nationale des consommations alimentaires 3, 2014-2015. Avis de l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (Anses), Rapport d'expertise collective, Juin 2017.
- Iqbal, M., Syed, J., Katsoyiannis, A., Malik, R., Farooqi, A., Butt, A., Li, J., Zhang, G., Cincinelli, A., Jones, K., 2017. Legacy and emerging flame retardants (FRs) in the freshwater ecosystem: A review. *Environmental Research* 152, 26-42. DOI: 10.1016/j.envres.2016.09.024.
- Ismail, N., Gewurtz, S.B., Pleskach, K., Whittle, D.M., Helm, P.A., Marvin, C.H., Tomy, G.T., 2009. Brominated and Chlorinated Flame Retardants in Lake Ontario, Canada, Lake Trout (*Salvelinus Namaycush*) Between 1979 and 2004 and Possible Influences of Food-Web Changes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28, 910-920. DOI: 10.1897/08-162.1.

- JCGM 200:2012. Vocabulaire international de métrologie – Concepts fondamentaux et généraux et termes associés (VIM), 3ème édition, Version 2008 avec corrections mineures, Comité commun pour les guides en métrologie (JCGM), 2012.
- Jia, H., Sun, Y., Liu, X., Yang, M., Wang, D., Qi, H., Shen, L., Sverko, E., Reiner, E.J., Li, Y.F., 2011. Concentration and Bioaccumulation of Dechlorane Compounds in Coastal Environment of Northern China. *Environmental Science & Technology* 45, 2613-2618. DOI: 10.1021/es103723h.
- Kakimoto, K., Nagayoshi, H., Yoshida, J., Akutsu, K., Konishi, Y., Toriba, A., Hayakawa, K., 2012. Detection of Dechlorane Plus and brominated flame retardants in marketed fish in Japan. *Chemosphere* 89, 416–419. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.05.072.
- Kakimoto, K., Nagayoshi, H., Akutsu, K., Konishi, Y., Kajimura, K., Hayakawa, K., Toriba, A., 2015. Dechlorane Plus and decabromodiphenyl ether in atmospheric particles of northeast Asian cities. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 14600-14605. DOI: 10.1007/s11356-014-2861-4.
- Kang, J.H., Kim, J.C., Jin, G.Z., Park, H., Baek, S.Y., Chang, Y.S., 2010. Detection of Dechlorane Plus in fish from urban-industrial rivers. *Chemosphere* 79, 850-854. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.02.051.
- Kang, H., Moon, H.B., Choi, K., 2016. Toxicological responses following short-term exposure through gavage feeding or water-borne exposure to Dechlorane Plus in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 146, 226-232. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.12.024.
- Kim, J., Son, M.H., Kim, J., Suh, J., Kang, Y., Chang, Y.S., 2014. Assessment of Dechlorane compounds in foodstuffs obtained from retail markets and estimates of dietary intake in Korean population. *Journal of Hazardous Materials* 275, 19-25. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.04.032.
- Kim, J., Son, M.H., Shin, E.S., Choi, S.D., Chang, Y.S., 2016. Occurrence of Dechlorane compounds and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the Korean general population. *Environmental Pollution* 212, 330-336. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.01.085.
- Kim, J.T., Choi, Y.J., Barghi, M., Yoon, Y.J., Kim, J.H., Kim, J.H., Chang, Y.S., 2018. Occurrence and distribution of old and new halogenated flame retardants in mosses and lichens from the South Shetland Islands, Antarctica. *Environmental Pollution* 235, 302-311. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.12.080.

- L'Homme, B., Calaprice, C., Calvano, C.D., Zambonin, C., Leardi, R., Focant, J.F., 2015. Ultra-trace measurement of Dechloranes to investigate food as a route of human exposure. *Chemosphere* 139, 525-533. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.07.043.
- LABERCA/DGAI/PCBN DL-tma.2.02. Vaccher, V., Marchand, P., Monteau, F., Bichon, E., Herpin, L., Le Bizec, B., 2013. PCB-NDL/ toutes matrices alimentaires/GC-HRMS méthode PCB non dioxin-like dans les aliments. Détection, identification et quantification par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem ou chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en haute résolution.
- LABERCA/DGAI/DPCB-tma.2.04. Vénisseau, A., Marchand, P., Monteau, F., Bichon, E., Herpin, L., Le Bizec, B., 2013. Dioxines, furanes, PCB "dioxine-like", PCB non "dioxine like" dans toute matrice destinée à l'alimentation animale et humaine. Détection, identification et quantification par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en haute résolution.
- Lauzent, M., Budzinski, H., Augagneur, S., Le Menach, K., Munoz, G., Labadie, P., Comparative occurrence and biomagnification of legacy persistent organic pollutants and alternative flame retardants in a macrotidal estuary: case study on the Gironde (SW France). 8th International Symposium on Flame Retardants, York, UK, 7-10 May 2017.
- Law, R.J., Losada, S., Barber, J.L., Bersuder, P., Deaville, R., Brownlow, A., Penrose, R., Jepson, P.D., 2013. Alternative flame retardants, Dechlorane Plus and BDEs in the blubber of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded or bycaught in the UK during 2008. *Environment International* 60, 81-88. DOI: 10.1016/j.envint.2013.08.009.
- Levchik, S.V., 2006. Introduction to Flame Retardancy and Polymer Flammability, Flame Retardant Polymer Nanocomposites. DOI: 10.1002/9780470109038.ch1.
- Li, Y., Yu, L., Wang, J., Wu, J., Mai, B., Dai, J., 2013. Accumulation pattern of Dechlorane Plus and associated biological effects on rats after 90 d of exposure. *Chemosphere* 90, 2149-2156. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.10.106.
- Li, W.L., Qi, H., Ma, W.L., Liu, L.Y., Zhang, Z., Zhu, N.Z., Mohammed, M.O.A., Li, Y.F., 2015. Occurrence, behavior and human health risk assessment of Dechlorane Plus and related compounds in indoor dust of China. *Chemosphere* 134, 166-171. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.04.024.
- Liang, X., Li, W., Martyniuk, C.J., Zha, J., Wang, Z., Cheng, G., Giesy, J.P., 2014. Effects of Dechlorane Plus on the hepatic proteome of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Aquatic Toxicology* 148, 83-91. DOI: 10.1016/j.aquatox.2014.01.003.

- Luo, X.J., Ruan, W., Zeng, Y.H., Liu, H.Y., Chen, S.J., Wu, J.P., Mai, B.X., 2013. Trophic dynamics of hexabromocyclododecane diastereomers and enantiomers in fish in a laboratory feeding study. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32, 2565-2570 (10.1002/etc.2337).
- Ma, W.L., Liu, L.Y., Qi, H., Sun, D.Z., Shen, J.M., Wang, D.G., Li, Y.F., 2011. Dechlorane Plus in multimedia in northeastern Chinese urban region. *Environment International* 37, 66-70. DOI: 10.1016/j.envint.2010.07.002.
- Ma, J., Qiu, X., Liu, D., Zhao, Y., Yang, Q., Fang, D., 2014. Dechlorane Plus in surface soil of North China: Levels, isomer profiles, and spatial distribution. *Environmental Science and Pollution Research* 21, 8870-8877. DOI: 10.1007/s11356-014-2823-x.
- Möller, A., Xie, Z., Sturm, R., Ebinghaus, R., 2010. Large-scale distribution of Dechlorane Plus in air and seawater from the Arctic to Antarctica. *Environmental Science & Technology* 44, 8977-8982. DOI: 10.1021/es103047n.
- Muñoz-Arnanz, J., Sáez, M., Hiraldo, F., Baos, R., Pacepavicius, G., Alae, M., Jiménez, B., 2011. Dechlorane plus and possible degradation products in white stork eggs from Spain. *Environment International* 37, 1164-1168. DOI: 10.1016/j.envint.2011.03.025.
- Muñoz-Arnanz, J., Roscales, J.L., Vicente, A., Aguirre, J.I., Jiménez, B., 2012. Dechlorane Plus in eggs of two gull species (*Larus michahellis* and *Larus audouinii*) from the southwestern Mediterranean Sea. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404, 2765-2773. DOI: 10.1007/s00216-012-6326-7.
- Na, G., Wei, W., Zhou, S., Gao, H., Ma, X., Qiu, L., Ge, L., Bao, C., Yao, Z., 2015. Distribution characteristics and indicator significance of Dechloranes in multi-matrices at Ny-Ålesund in the Arctic. *Journal of Environmental Sciences* 28, 8-13. DOI: 10.1016/j.jes.2014.07.019.
- Nasreddine, L., Hwalla, N., Sibai, A., Hamzé, M., Parent-Massin, D., 2006. Food consumption patterns in an adult urban population in Beirut, Lebanon. *Public Health Nutrition* 9, 194-203. DOI: 10.1079/phn2005855.
- Gagné, P.L., Fortier, M., Fraser, M., Parent, L., Vaillancourt, C., Verreault, J., 2017. Dechlorane Plus induces oxidative stress and decreases cyclooxygenase activity in the blue mussel. *Aquatic Toxicology journal* 188, 26-32. DOI: 10.1016/j.aquatox.2017.04.009.
- Poma, G., Malysheva, S. V., Gosciny, S., Malarvannan, G., Voorspoels, S., Covaci, A., Van Loco, J., 2018. Occurrence of selected halogenated flame retardants in Belgian foodstuff. *Chemosphere* 194, 256-265. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.11.179.

- Price, D., Horrocks. AR., 2007. Advances in fire retardant materials. Woodhead Publishing Limited.
- Qi, H., Liu, L.Y., Jia, H.L., Li, Y.F., Ren, N.Q., You, H., 2010. Dechlorane Plus in surficial water and sediment in a northeastern Chinese river. *Environmental Science & Technology* 44, 2305-2308. DOI: 10.1021/es9027106.
- Qiao, L., Zheng, X.B., Yan, X., Wang, M.H., Zheng, J., Chen, S.J., Yang, Z.Y., Mai, B.X., 2018. Brominated flame retardant (BFRs) and Dechlorane Plus (DP) in paired human serum and segmented hair. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 147, 803-808. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.09.047.
- Qiu, X., Marvin, C.H., Hites, R.A., 2007. Dechlorane Plus and other flame retardants in a sediment core from Lake Ontario. *Environmental Science & Technology* 41, 6014-6019. DOI: 10.1021/es070810b.
- Ren, N., Sverko, E., Li, Y.F., Zhang, Z., Harner, T., Wang, D., Wan, X., Mccarry, B.E., 2008. Levels and isomer profiles of Dechlorane Plus in Chinese air. *Environmental Science & Technology* 42, 6476-6480. DOI: 10.1021/es800479c.
- Ren, G., Yu, Z., Ma, S., Peng, P., Sheng, G., Fu, J., 2009. Determination of Dechlorane Plus in Serum from Electronics Dismantling Workers in South China. *Environmental Science & Technology* 43, 9453-9457. DOI:10.1021/es901672m.
- Rjabova, J., Bartkevics, V., Zacs, D., 2016. The occurrence of Dechlorane Plus and related norbornene-based flame retardants in Baltic wild salmon (*Salmo salar*). *Chemosphere* 147, 210-217. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.12.122.
- Sales, C., Poma, G., Malarvannan, G., Portolés, T., Beltrán, J., Covaci, A., 2017. Simultaneous determination of Dechloranes, polybrominated diphenyl ethers and novel brominated flame retardants in food and serum. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 409, 4507-4515. DOI: 10.1007/s00216-017-0411-x.
- Santín, G., Barón, E., Eljarrat, E., Barceló, D., 2013. Emerging and historical halogenated flame retardants in fish samples from Iberian rivers. *Journal of Hazardous Materials* 263, 116-121. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.08.068.
- SC-4/14, Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Listing of hexabromodiphenyl ether and heptabromodiphenyl ether. United Nations Environment Program: Geneva, Switzerland.
- SC-4/18, Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. Listing of tetrabromodiphenyl ether and pentabromodiphenyl ether, United Nations Environment Program: Geneva, Switzerland.

- Scharte, B., 2010. Phosphorus-based flame retardancy mechanisms-old hat or a starting point for future development? *Materials* 3, 4710-4745. DOI: 10.3390/ma3104710.
- Shen, L., Reiner, E.J., Macpherson, K.A., Kolic, T.M., Sverko, E., Helm, P.A., Bhavsar, S.P., Brindle, I.D., Marvin, C.H., 2010. Identification and screening analysis of halogenated norbornene flame retardants in the Laurentian Great Lakes: Dechloranes 602, 603, and 604. *Environmental Science & Technology* 44, 760-766. DOI: 10.1021/es902482b.
- Shen, L., Reiner, E.J., Helm, P.A., Marvin, C.H., Hill, B., Zhang, X., MacPherson, K.A., Kolic, T.M., Tomy, G.T., Brindle, I.D., 2011a. Historic trends of Dechloranes 602, 603, 604, Dechlorane plus and other norbornene derivatives and their bioaccumulation potential in Lake Ontario. *Environmental Science & Technology* 45, 3333-3340. DOI: 10.1021/es104328r.
- Shen, L., Reiner, E.J., MacPherson, K.A., Kolic, T.M., Helm, P.A., Richman, L.A., Marvin, C.H., Burniston, D.A., Hill, B., Brindle, I.D., McCrindle, R., Chittim, B.G., 2011b. Dechloranes 602, 603, 604, Dechlorane Plus, and Chlordene Plus, a newly detected analogue, in tributary sediments of the Laurentian great lakes. *Environmental Science & Technology* 45, 693-699. DOI: 10.1021/es1027844.
- Shen, L., Jobst, K.J., Reiner, E.J., Helm, P.A., McCrindle, R., Taguchi, V.Y., Marvin, C.H., Backus, S., MacPherson, K.A., Brindle, I.D., 2014. Identification and occurrence of analogues of Dechlorane 604 in Lake Ontario sediment and their accumulation in fish. *Environmental Science & Technology* 48, 11170-11177. DOI: 10.1021/es503089c.
- Siddique, S., Xian, Q., Abdelouahab, N., Takser, L., Phillips, S.P., Feng, Y.L., Wang, B., Zhu, J., 2012. Levels of Dechlorane Plus and polybrominated diphenylethers in human milk in two Canadian cities. *Environment International* 39, 50-55. DOI: 10.1016/j.envint.2011.09.010.
- Squadrone, S., Prearo, M., Nespoli, R., Scanzio, T., Abete, M.C., 2016. PCDD/Fs, DL-PCBs and NDL-PCBs in European catfish from a northern Italian lake: the contribution of an alien species to human exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 125, 170-175. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2015.12.004.
- Stapleton, H.M., Misenheimer, J., Hoffman, K., Webster, T.F., 2014. Flame retardant associations between children's handwipes and house dust. *Chemosphere* 116, 54-60. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.12.100.
- Sührling, R., Byer, J., Freese, M., Pohlmann, J.D., Wolschke, H., Möller, A., Hodson, P.V., Alaei, M., Hanel, R., Ebinghaus, R., 2014. Brominated flame retardants and Dechloranes in European and

- American eels from glass to silver life stages. *Chemosphere* 116, 104-111. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.10.096.
- Sühring, R., Freese, M., Schneider, M., Schubert, S., Pohlmann, J.D., Alaei, M., Wolschke, H., Hanel, R., Ebinghaus, R., Marohn, L., 2015. Maternal transfer of emerging brominated and chlorinated flame retardants in European eels. *Science of the Total Environment* 530-531, 209-218. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.05.094.
- Sun, Y., Luo, X., Wu, J., Mo, L., Chen, S., Zhang, Q., Zou, F., Mai, B., 2012. Species- and tissue-specific accumulation of Dieldrin in three terrestrial passerine bird species from the Pearl River Delta, South China. *Chemosphere* 89, 445-451. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2012.05.089.
- Sun, J., Zhang, A., Fang, L., Wang, J., Liu, W., 2013. Levels and distribution of Dieldrin and related compounds in surficial sediments of the Qiantang River in eastern China: The results of urbanization and tide. *Science of the Total Environment* 443, 194-199. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.10.096.
- Sun, Y.X., Xu, X.R., Hao, Q., Luo, X.J., Ruan, W., Zhang, Z.W., Zhang, Q., Zou, F.S., Mai, B.X., 2014. Species-specific accumulation of halogenated flame retardants in eggs of terrestrial birds from an ecological station in the Pearl River Delta, South China. *Chemosphere* 95, 442-447. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.091.
- Sun Y, Zhang Z, Xu X, Hu Y, Luo X, Cai M, M.B., 2015. Bioaccumulation and biomagnification of halogenated organic pollutants in mangrove biota from the Pearl River Estuary, South China. *Marine Pollution Bulletin* 99, 150-156. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.041.
- Sun, R., Luo, X., Tang, B., Li, Z., Wang, T., Tao, L., Mai, B., 2016. Persistent halogenated compounds in fish from rivers in the Pearl River Delta, South China: Geographical pattern and implications for anthropogenic effects on the environment. *Environmental Research* 146, 371-378. DOI: 10.1016/j.envres.2016.01.021.
- Sun, Y.X., Hu, Y.X., Zhang, Z.W., Xu, X.R., Li, H.X., Zuo, L.Z., Zhong, Y., Sun, H., Mai, B.X., 2017. Halogenated organic pollutants in marine biota from the Xuande Atoll, South China Sea: Levels, biomagnification and dietary exposure. *Marine Pollution Bulletin journal* 118, 413-419. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.03.009.
- Sverko, E., Tomy, G.T., Marvin, C.H., Zaruk, D., Reiner, E., Helm, P.A., Hill, B., Mccarry, B.E., 2008. Dieldrin plus levels in sediment of the lower great lakes. *Environmental Science & Technology* 42, 361-366. DOI: 10.1021/es0710104.

- Sverko, E., Tomy, G.T., Reiner, E.J., Li, Y.F., McCarry, B.E., Arnot, J.A., Law, R.J., Hites, R.A., 2011. Dechlorane plus and related compounds in the environment: A review. *Environmental Science & Technology* 45, 5088-5098. DOI: 10.1021/es2003028.
- Tang, B., Luo, X.J., Huang, C.C., Sun, R.X., Wang, T., Zeng, Y.H., Mai, B.X., 2018. Stereoselective bioaccumulation of *syn*- and *anti*-Dechlorane plus isomers in different tissues of common carp (*Cyprinus carpio*). *Science of the Total Environment* 616-617, 1339-1346. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.183.
- Tao, W., Zhou, Z., Shen, L., Zhao, B., 2015. Determination of Dechlorane flame retardants in soil and fish at Guiyu, an electronic waste recycling site in south China. *Environmental Pollution* 206, 361-368. DOI: 10.1016/j.envpol.2015.07.043.
- Tomy, G.T., Pleskach, K., Ismail, N., Whittle, D.M., Helm, P.A., Sverko, E.D., Zaruk, D., Marvin, C.H., 2007. Isomers of Dechlorane Plus in Lake Winnipeg and Lake Ontario food webs. *Environmental Science & Technology* 41, 2249-2254. DOI: 10.1021/es062781v.
- Tomy, G.T., Sverko, E., Palace, V., Rosenberg, B., McCrindle, R., McAlees, A., Smith, L.A.P., Byer, J., Pacepavicius, G., Alae, M., McCarry, B.E., 2013. Dechlorane Plus monoadducts in a lake ontario (Canada) food web and biotransformation by lake trout (*salvelinus namaycush*) liver microsomes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32, 1376-1381. DOI: 10.1002/etc.2199.
- Troitzsch JH, 1998. Overview of flame retardants. *Chemical today* 16, 1-19.
- UNEP, 2001. Final Act of the Conference of Plenipotentiaries on the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. United Nations Environment Program: Geneva, Switzerland, p 44.
- Vaccher, V., Marchand, P., Picherot, M., Dervilly-Pinel, G., Lesquin, E., Brosseaud, A., Venisseau, A., Le Bizec, B., 2018. Field investigation to determine the environmental source of PCBs in a pig farm. *Food Chemistry* 245, 394-401. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.10.105.
- Vénisseau, A., Bichon, E., Brosseaud, A., Vaccher, V., Lesquin, E., Larvor, F., Durand, S., Dervilly-Pinel, G., Marchand, P., Le Bizec, B., 2018. Occurrence of legacy and novel brominated flame retardants in food and feed in France for the period 2014 to 2016. *Chemosphere* 207, 497-506. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.122.
- Von Eyken, A., Pijuan, L., Martí, R., Blanco, M.J., Díaz-Ferrero, J., 2016. Determination of Dechlorane Plus and related compounds (Dechlorane 602, 603 and 604) in fish and vegetable oils. *Chemosphere* 144, 1256-1263. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.001.

- Vorkamp, K., Bossi, R., Rigét, F.F., Skov, H., Sonne, C., Dietz, R., 2015. Novel brominated flame retardants and Dechlorane Plus in Greenland air and biota. *Environmental Pollution journal* 196, 284-291. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.10.007.
- Wang, D.G., Yang, M., Qi, H., Sverko, E., Ma, W.L., Li, Y.F., Alae, M., Reiner, E.J., Shen, L., 2010. An Asia-specific source of Dechlorane Plus: Concentration, isomer profiles, and other related compounds. *Environmental Science & Technology* 44, 6608-6613. DOI: 10.1021/es101224y.
- Wang, L., Jia, H., Liu, X., Yang, M., Hong, W., Sun, Y., Su, Y., Qi, H., Song, W., Lin, J., Li, Y.F., 2012. Dechloranes in a river in northeastern China: Spatial trends in multi-matrices and bioaccumulation in fish (*Enchelyopus elongatus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 84, 262-267. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.07.018.
- Wang, D.G., Guo, M.X., Pei, W., Byer, J.D., Wang, Z., 2015. Trophic magnification of chlorinated flame retardants and their dechlorinated analogs in a fresh water food web. *Chemosphere* 118, 293-300. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.057.
- Wang, P., Zhang, Q., Zhang, H., Wang, T., Sun, H., Zheng, S., Li, Y., Liang, Y., Jiang, G., 2016. Sources and environmental behaviors of Dechlorane Plus and related compounds: A review. *Environment International* 88, 206-220. DOI: 10.1016/j.envint.2015.12.026.
- Wong, C.S., Lau, F., Clark, M., Mabury, S.A., Muir, D.C.G., 2002. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) can eliminate chiral organochlorine compounds enantioselectively. *Environmental Science & Technology* 36, 1257-1262. DOI: 10.1021/es0156791.
- Wu, J.P., Zhang, Y., Luo, X.J., Wang, J., Chen, S.J., Guan, Y.T., Mai, B.X., 2010. Isomer-specific bioaccumulation and trophic transfer of Dechlorane Plus in the freshwater food web from a highly contaminated site, South China. *Environmental Science & Technology* 44, 606-611. DOI: 10.1021/es902744b.
- Wu, B., Liu, S., Guo, X., Zhang, Y., Zhang, X., Li, M., Cheng, S., 2012. Responses of mouse liver to Dechlorane Plus exposure by integrative transcriptomic and metabonomic studies. *Environmental Science & Technology* 46, 10758-10764. DOI: 10.1021/es301804t.
- Xian, Q., Siddique, S., Li, T., Feng, Y. lai, Takser, L., Zhu, J., 2011. Sources and environmental behavior of Dechlorane Plus: A review. *Environment International* 37, 1273-1284. DOI: 10.1016/j.envint.2011.04.016.

- Yadav, I.C., Devi, N.L., Li, J., Zhang, G., 2017. Occurrence and source apportionment of halogenated flame retardants in the indoor air of Nepalese cities: Implication on human health. *Atmospheric Environment* 161, 122-131. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2017.04.031.
- Yan, X., Zheng, J., Chen, K.H., Yang, J., Luo, X.J., Yu, L.H., Chen, S.J., Mai, B.X., Yang, Z.Y., 2012. Dechlorane Plus in serum from e-waste recycling workers: Influence of gender and potential isomer-specific metabolism. *Environment International* 49, 31-37. DOI: 10.1016/j.envint.2012.08.011.
- Yang, R., Wei, H., Guo, J., McLeod, C., Li, A., Sturchio, N.C., 2011. Historically and currently used dechloranes in the sediments of the great lakes. *Environmental Science & Technology* 45, 5156-5163. DOI: 10.1021/es201019m.
- Yang, R., Zhang, S., Li, X., Luo, D., Jing, C., 2016a. Dechloranes in lichens from the southeast Tibetan Plateau: Evidence of long-range atmospheric transport. *Chemosphere* 144, 446-451. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.09.011.
- Yang, Y., Ji, F., Cui, Y., Li, M., 2016b. Ecotoxicological effects of earthworm following long-term Dechlorane Plus exposure. *Chemosphere* 144, 2476-2481. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.11.023.
- Yasutake, D., Sato, T., Hori, T., Watanabe, T., Estimation of dietary intake of Dechlorane Plus and related compounds in a Japanese National Survey. 38th International symposium on halogenated persistent organic pollutants, Dioxin, Poland, 26-31 August 2018.
- You, F., Hu, Y., Shi, Y., Zhou, J., 2005. Synergism between deca-brominated flame retardants and nano-dispersed clay in HIPS composites. *Fire Safety Science* 1145-1154. DOI: 10.3801/iafss.fss.8-1145.
- Yu, Z., Lu, S., Gao, S., Wang, J., Li, H., Zeng, X., Sheng, G., Fu, J., 2010. Levels and isomer profiles of Dechlorane Plus in the surface soils from e-waste recycling areas and industrial areas in South China. *Environmental Pollution* 158, 2920-2925. DOI: 10.1016/j.envpol.2010.06.003.
- Yu, D., Yang, J., Li, T., Feng, J., Xian, Q., Zhu, J., 2015. Levels and distribution of Dechloranes in sediments of Lake Taihu, China. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 6601-6609. DOI: 10.1007/s11356-014-3794-7.
- Zacs, D., Ikkere, L.E., Bartkevics, V., 2018. Emerging brominated flame retardants and Dechlorane-related compounds in European eels (*Anguilla anguilla*) from Latvian lakes. *Chemosphere* 197, 680-690. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.01.105.

- Zhang, Y., Wu, J.P., Luo, X.J., Wang, J., Chen, S.J., Mai, B.X., 2011. Tissue distribution of Dechlorane Plus and its dechlorinated analogs in contaminated fish: High affinity to the brain for *anti*-DP. *Environmental Pollution journal* 159, 3647-3652. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.07.026.
- Zheng, X.B., Luo, X.J., Zeng, Y.H., Wu, J.P., Mai, B.X., 2014. Sources, gastrointestinal absorption and stereo-selective and tissue-specific accumulation of Dechlorane Plus (DP) in chicken. *Chemosphere* 114, 241-246. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.04.104.
- Zhou, S., Fu, J., He, H., Fu, J., Tang, Q., Dong, M., Pan, Y., Li, A., Liu, W., Zhang, L., 2017. Spatial distribution and implications to sources of halogenated flame retardants in riverine sediments of Taizhou, an intense e-waste recycling area in eastern China. *Chemosphere* 184, 1202-1208. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.06.104.
- Zhu, J., Feng, Y.-L., Shoeib, M., 2007. Detection of Dechlorane Plus in Residential Indoor Dust in the City of Ottawa, Canada. *Environmental Science & Technology* 41, 7694-7698. DOI: 10.1021/es071716y.
- Zhu, B., Lam, J.C.W., Yang, S., Lam, P.K.S., 2013. Conventional and emerging halogenated flame retardants (HFRs) in sediment of Yangtze River Delta (YRD) region, East China. *Chemosphere* 93, 555-560. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.052.
- Zhu, B., Lai, N.L.S., Wai, T.C., Chan, L.L., Lam, J.C.W., Lam, P.K.S., 2014. Changes of accumulation profiles from PBDEs to brominated and chlorinated alternatives in marine mammals from the South China Sea. *Environment International* 66, 65-70. DOI: 10.1016/j.envint.2014.01.023.

ANNEXES

Annexe 1 : Seuils de sensibilité pour les campagnes n°1 et 3.

Un seuil de sensibilité consensuel a été déterminé pour chaque composé et à chaque campagne. Concernant les LOQ des 4 composés non détectés dans les blancs de procédure, nous avons déterminé des valeurs conservatrices au regard de l'ensemble des résultats (**Tableau A1**).

Tableau A1 : LOQ consensuelles (pg/g PF) déterminées pour les campagnes n°1 et 3.

Campagne	Dec-601	Dec-602	Dec-603	CP
n°1	1,0	0,2	0,5	0,2
n°3	0,5	0,1	0,2	0,1

Concernant le *syn*-DP et l'*anti*-DP, retrouvés dans les blancs de procédure, la LoR exprimée en pg a été convertie en pg/g PF en considérant une prise d'essai virtuelle consensuelle. Les prise d'essai équivalentes en poids frais sont présentées **Figure A1**. Nous avons choisi une prise d'essais consensuelle égale à 15 g (campagne n°1) et 10 g (campagne n°3), ce qui a pour effet de surestimer majoritairement l'ensemble des LoR individuelles. Les valeurs de LoR obtenues, présentées dans le **Tableau A2**, apparaissent environ 5 à 50 fois plus élevées que les LOQ des autres composés.

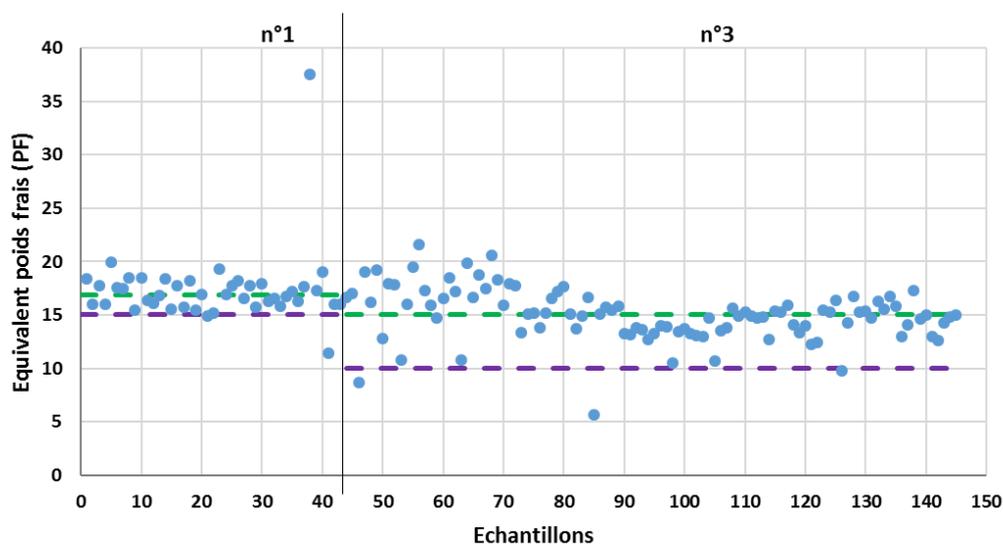


Figure A1 : Prises d'essais équivalentes en poids frais (PF) des échantillons de silure des campagnes n°1 et n°3. Vert, médiane ; violet, valeur retenue pour l'expression d'une LoR consensuelle en pg/g PF.

Tableau A2 : LoR consensuelles (pg/g PF) déterminées pour les campagnes n°1 et n°3.

Campagne	Paramètre descriptif	<i>anti-DP</i>	<i>syn-DP</i>
n°1	Quantité moyenne (pg)	38,4	40,6
	LoR (pg)	115	127
	Prise d'essai virtuelle (g PF)	15	15
	LoR consensuelle (pg/g PF)	7,68	8,45
n°3	Quantité moyenne (pg)	8,4	10,8
	LoR (pg)	22,7	29,5
	Prise d'essai virtuelle (g PF)	10	10
	LoR consensuelle (pg/g PF)	2,27	2,95

Une fois les seuils de sensibilité consensuels déterminés pour les campagnes d'analyse dédiées aux échantillons de silures, considérant que le nombre de valeurs mesurées sont inférieures à ces seuils, nous avons choisi d'interpréter les résultats à la lumière de deux scénarios permettant d'encadrer les valeurs vraies.

Titre : Développement d'une stratégie analytique dédiée aux Dechloranes : Contribution à l'évaluation de l'exposition alimentaire de l'homme à ces contaminants persistants et émergents.

Mots clés : Retardateurs de flamme chlorés, Stratégie analytique, Contaminants de l'environnement, Sécurité chimique des aliments, Exposition alimentaire, Évaluation du risque.

Résumé : Les retardateurs de flamme (RF) sont des substances utilisées dans de nombreux produits synthétiques pour limiter la propagation du feu et ainsi améliorer la sécurité des habitations et des lieux publics. En raison de leur stabilité, de leur bioaccumulation et de leur toxicité, l'utilisation massive de certains RF, en particulier halogénés parmi lesquels la famille de Dechloranes, génère cependant un problème de contamination de l'environnement qui pose aujourd'hui la question d'éventuelles répercussions sur la santé humaine. Les Dechloranes ont été détectés pour la première fois dans l'environnement en 2006 et préoccupent, depuis, la communauté scientifique et les autorités sanitaires. Le présent travail avait pour objectif de contribuer à combler le manque de données sur les niveaux de prévalence en Dechloranes. Pour ce faire, une stratégie analytique ciblée, dédiée à l'identification

et à la quantification des Dechloranes présents à l'état de traces (pg/g) dans des denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) et des huiles végétales, et basée sur un couplage GC-HRMS a été développée. Une attention particulière a été portée à la maîtrise des contaminations procédurales, eu égard au caractère ubiquitaire de certains composés. L'application de la méthode finalisée à 378 échantillons de poissons d'eaux douce pêchés en France et de DAOA et huiles végétales collectées en France, au Liban et dans quatre pays d'Afrique subsaharienne a permis de dresser le premier état des lieux des niveaux de contamination environnementale et alimentaire dans ces pays, jusqu'à estimer l'exposition alimentaire de leurs populations à ces composés persistants, considérés comme émergents.

Title: Development of an analytical strategy dedicated to Dechloranes: Contribution to the dietary assessment of human exposure to these persistent and emerging contaminants.

Keywords: Chlorinated flame retardants, Analytical strategy, Environmental Contaminants, Chemical Food Safety, Daily Intake, Risk Assessment.

Abstract: Flame retardants (FR) are substances used in many synthetic products to limit the spread of fire and thus improve the safety of homes and public places. Due to their stability, bioaccumulation and toxicity, some FRs, in particular halogenated ones among which the family of Dechloranes, are widely used, generating an issue of environmental contamination with potential repercussions on human health. Dechloranes were detected for the first time in the environment in 2006. It raised concerns from the scientific community and public health authorities. The purpose of this research work was to help fill the obvious data gap on occurrence levels of Dechloranes. To this end, a targeted analytical strategy dedicated to the identification and quantification of trace amounts of Dechloranes (pg/g) in food from animal origin and vegetable oils based

on a GC-HRMS instruments has been developed. Particular attention has been paid to the control of procedural contaminations, given the ubiquitous nature of some compounds. This method was applied to 378 samples of freshwater fish from France and foodstuffs collected in France, Lebanon and four sub-Saharan African countries. It enabled to draw the first inventory of levels of environmental and food contamination in these countries. Eventually, the dietary exposure of their populations to these persistent and emerging compounds was estimated.