

IDENTIFICATION DE SOURCES DE RETARDATEURS DE FLAMMES BROMES EN BATIMENTS D'ELEVAGE

**Cariou Ronan¹, Vénisseau Anaïs¹, Amand Gérard³, Marchand Philippe¹,
Marcon Michel⁴, Huneau-Salaün Adeline⁵, Le Bouquin Sophie⁵, Dervilly-Pinel Gaud¹,
Travel Angélique^{2*}, Le Bizec Bruno¹**

¹LUNAM Université, Oniris, USC INRA 1329 Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), F-44307, Nantes, France

²ITAVI, Unité de Recherches Avicoles, Centre INRA de Tours, Nouzilly, France

³ITAVI, Zoopôle Beaucemaine, 41, rue beaucemaine, 22440 Ploufragan, France

⁴IFIP, Institut du porc, La Motte au Vicomte, F-35651, Le Rheu, France

⁵ANSES-UMT Sanivol, Ploufragan-Plouzané, BP 53, F-22440, Ploufragan, France

ronan.cariou@oniris-nantes.fr

RÉSUMÉ

Les Retardateurs de Flamme Bromés (RFB) sont des substances chimiques ignifuges incorporées notamment dans les matériaux isolants pour la construction. Bien que leur teneur dans les aliments ne soit pas réglementée à ce jour, nombre de ces substances sont suspectées d'être des perturbateurs endocriniens. Selon l'EFSA, les consommateurs peuvent y être exposés notamment *via* la consommation de produits animaux. Outre l'alimentation, les matériaux ignifugés peuvent être considérés comme des sources de contamination de l'environnement de l'exploitation agricole, par délitement en fines particules de poussière pouvant être inhalées. Un des objectifs du projet BrAviPorc est d'identifier les sources potentielles de RFB dans l'environnement d'élevages de poulets, poudeuses et porcs. Sur deux sites (volailles et porc), un dépistage a été réalisé sur environ 150 équipements (parois, abreuvoirs, pondoirs, canalisations...) et matériaux d'élevage (parois, isolants), à l'aide d'un dispositif portatif permettant de détecter la quantité de brome à la surface des matériaux, par fluorescence de rayons X (XRF). Cette première investigation a montré que seuls les matériaux d'isolation pouvaient contenir du brome, avec des valeurs de 2 à 4,3%. Par la suite, 33 échantillons d'isolants ont été collectés dans divers sites d'élevage et analysés par couplages de chromatographie à la spectrométrie de masse, afin de rechercher la présence de RFB. Le decabromodiphényléther n'a été détecté dans aucun des prélèvements analysés (23/33). L'hexabromocyclododécane (HBCD) a été identifié et quantifié dans 6 échantillons de polystyrène à des niveaux allant de 0,61 à 3,85%. La caractérisation des isomères d'HBCD distingue deux groupes de polystyrène, dominés soit par la forme α -, soit par la forme γ -HBCD, certainement à mettre en lien avec les process de fabrication des isolants. Les investigations se poursuivent pour confirmer cette hypothèse. Les mesures de brome réalisées par XRF et les dosages de RFB sont relativement concordants, ce qui démontre la fiabilité de la méthode XRF et son intérêt pour cibler rapidement les matériaux contenant des RFB sur un élevage. Seul inconvénient, la mesure ne peut pas être réalisée par XRF si le matériau n'est pas assez dense.

ABSTRACT

Braviporc project: identification of brominated flame retardants contamination sources in rearing house

Brominated Flame Retardants (BFRs) are flame retardant chemicals, possibly incorporated in building materials. Although their content in food is not regulated, some of these substances are suspected endocrine disruptors. According to EFSA, consumption of animal products represents a major source of exposure of consumers. Besides food, fireproof materials can be considered as sources of environmental contamination on the farm. One aim of the BrAviPorc project is to identify potential sources of BFRs in chicken, laying hen and pork breeding environment. A screening was performed on approximately 150 facilities (drinkers, nest boxes, pipes ...) and breeding material (walls, insulation) at two sites (poultry and pork), using an X-ray fluorescence (XRF) portable device for quantifying bromine element on the surface of materials. This initial investigation showed that only insulation materials could contain bromine, with values ranging from 2 to 4.3%. Subsequently, 33 insulation material samples were collected from various breeding sites and analyzed by chromatography-mass spectrometry (MS) couplings to detect the presence of BFRs. The decabromodiphenyl ether was not detected in any of the samples tested (23/33). Hexabromocyclododecane (HBCD) has been identified and quantified in 6 samples of polystyrene at levels ranging from 0.61 to 3.85%. HBCD isomer profile distinguishes two groups of polystyrene, dominated by α - or γ -HBCD, respectively, certainly to be correlated with the manufacturing process of materials. Investigations are ongoing to confirm this hypothesis. Measures carried out by XRF and MS are relatively consistent, demonstrating the reliability of the XRF method and its relevance to quickly screen for materials containing BFRs in a farm. One drawback is that the measurement cannot be performed by XRF if the material is not dense enough.

INTRODUCTION

L'impact des retardateurs de flamme bromés (RFB) sur l'environnement et leur risque potentiel pour la santé animale et humaine est une préoccupation actuelle des pouvoirs publics, de la communauté scientifique, des consommateurs et des filières de production. La voie alimentaire est considérée comme une voie majeure d'exposition pour l'Homme, en particulier à travers la consommation de produits d'origine animale, tels que les produits de la mer (EFSA, 2011). Les plans de surveillance précédemment conduits par les autorités française ont également mis en évidence les animaux d'élevage terrestres comme contribuant à l'exposition alimentaire aux RFB. Outre l'alimentation, d'autres sources peuvent être considérées, telles que les matériaux ignifugés au travers de l'inhalation de fines particules de poussières. Par conséquent, afin de mettre en œuvre des mesures efficaces pour réduire les niveaux de contamination en RFB dans les produits animaux terrestres, une meilleure connaissance de l'exposition des animaux de rente dans leur environnement d'élevage est nécessaire.

L'objectif du présent projet était d'étudier les sources potentielles de RFB dans l'environnement d'élevage des volailles et des porcs, qui peuvent éventuellement contaminer le troupeau. A cet effet, un dépistage a été réalisé sur deux sites représentatifs de productions de volailles et de porcs, à l'aide d'un dispositif portatif permettant de détecter la quantité de brome à la surface des matériaux par fluorescence de rayons X (XRF). Le premier site était un hall d'exposition de tous types de matériaux et matériels utilisés dans des bâtiments de production de volaille chair et œuf (Ploufragan, 22, France). Le second était une ferme expérimentale porcine (Romillé, 35, France).

Sur la base des résultats de dépistage, des échantillons de matériaux d'isolation ont été collectés et analysés pour la présence d'hexabromocyclododécane (HBCD) et de décabromodiphényléther (décaBDE). De plus, l'analyse sans séparation chromatographique par ionisation à pression atmosphérique (source DART) a été réalisée pour confirmer les résultats et investiguer la nature d'une substance bromée inconnue dépistée par XRF (présence de brome).

Enfin, un essai d'extrusion de polystyrène avec de l'HBCD a été réalisé afin d'investiguer des questions liées au profil d'isomères. En effet, si l'isomère γ -HBCD domine le produit technique, il a été observé au cours de la présente étude que nombre de polystyrène (PS) contenant de l'HBCD présentaient un profil dominé par l'isomère α , celui étant majoritairement retrouvé dans les denrées alimentaires d'origine animale.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Fluorescence de rayons X (XRF)

L'appareil portable XRF (Bruker) a été manipulé par un expert agréé, afin d'accéder à la composition élémentaire en éléments de numéro atomique supérieur à 12 (magnésium) en 30 secondes. Une attention particulière a été portée à l'élément brome et un étalonnage a été réalisé en utilisant la poudre technique d'hexabromocyclododécane (>95%, Fluka). L'identification de brome a été considérée comme une indication forte de la présence de RFB. Une attention particulière a également été portée à l'antimoine, dans la mesure où, selon la littérature, l'oxyde d'antimoine (Sb_2O_3) est fréquemment associé aux RFB pour accroître leur efficacité. Plus de 150 tests de dépistage ont été effectués sur toutes sortes de matériaux, incluant murs, isolation, ventilation, mangeoires, abreuvoirs, canalisations, gaines électriques, nids, etc.

1.2. Matériaux isolants

Trente-trois échantillons de matériaux d'isolation, principalement des polymères organiques, ont été collectés sur différents sites de production d'œuf de poule et de poulet de chair sur le territoire français. De fines tranches ont été prélevées « à cœur » (élimination des surfaces) à l'aide d'une lame chirurgicale. Cinq à 35 mg de matériel ont été extraits par 10 mL de dichlorométhane (DCM, Picograde®, LGC Promochem) dans un flacon de 15 mL pendant quelques jours. Une dilution appropriée de la phase liquide a été réalisée avant analyse de l'HBCD et du décaBDE.

1.3. Standards

Les solutions de référence en isomères α -, β - et γ -hexabromocyclododécane (HBCD) natifs ainsi que le décabromodiphényléther (décaBDE) natif et leurs équivalents marqués au carbone 13 (^{13}C) ont été obtenus chez Wellington Laboratories (Guelph, Ontario, Canada). Les solutions de travail ont été préparées par dilutions appropriées dans du toluène (Picograde®, LGC Promochem). La verrerie a été traitée à 400 °C pendant 4 h avant utilisation, à des fins de maîtrise de la contamination analytique.

1.4. Analyse de l'HBCD

Les isomères de l'HBCD ont été analysés par couplage de chromatographie liquide à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), avec ionisation électrospray (ESI), sur la base d'une méthode accréditée pour les matrices alimentaires appliquées dans le cadre de projets de recherche et des plans de surveillance français dédiés à la sécurité alimentaire. Brièvement, les extraits ont été fortifiés par les étalons internes marqués au ^{13}C , reconstitués et injectés sur une colonne Hypersil Gold (100 mm x 2,1 mm, 1,9 μ m, Thermo Scientific) en utilisant une

chaîne HPLC 1260 (Agilent Technologies). La phase mobile était constituée d'eau contenant de l'acétate d'ammonium à 20 mM (A) et un mélange méthanol/acétonitrile 1:1 (v/v) (B). Le gradient appliqué était isocratique à 70% de B pendant 9,5 min et porté à 100% B à 14 min. L'ESI a été utilisée dans le mode négatif et couplée à un filtre de masse de type triple quadripôle (6410, Agilent). Le mode d'acquisition Multiple Reaction Monitoring a été sélectionné, sur la base du suivi de transitions $[M-H]^- > [Br]^-$. La quantification a été basée sur le principe de dilution isotopique.

1.5. Analyse du décaBDE

Le décaBDE a été analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution avec ionisation par impact électronique, sur la base d'une méthode accréditée pour les matrices alimentaires appliquées dans le cadre de projets de recherche et des plans de surveillance français dédiés à la sécurité alimentaire. Brièvement, les extraits ont été fortifiés par les étalons internes marqués au ^{13}C , reconstitués et injectés sur une colonne RTX 1614 (15 m x 0,25 mm, 0,10 μ m). L'énergie des électrons a été fixée à 70 eV. Le filtre de masse était de type secteur électromagnétique (JMS800D, Jeol, Japon, R=10000). La quantification a été basée sur le principe de dilution isotopique.

1.6. Spectrométrie de masse ambiante

Une source d'ions à pression atmosphérique de type *Direct Analysis in Real Time* (DART, IonSense) a été connectée à un instrument LTQ-Orbitrap (Thermo Scientific) fonctionnant en mode négatif à R=30 000 (m/z 70 à 1000). La température de la source a été fixée à 250 °C. Les extraits ont été séchés sur une grille contenant 10 emplacements et positionnés sur le passeur. Les grilles ont été soigneusement lavées avant utilisation et contrôlées pour toute contamination croisée.

1.7. Ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)

L'introduction directe des extraits a été réalisée dans une source APCI connectée à un filtre de masse de type Q-Trappe orbitale (Q-Exactive, Thermo Scientific) fonctionnant en mode négatif à R=70 000 (m/z 150 à 900). Les extraits, préalablement reconstitués dans de l'acétonitrile, ont été introduits à 110 μ L/min dans un mélange de solvants acétonitrile/eau 75:25 (v/v) à 0.1% d'acide acétique.

1.8. Essai d'extrusion de PS avec HBCD

L'extrusion de polystyrène (PS, Styron 678E) avec 3% d'HBCD technique (TCI Europe) a été réalisée à différentes températures (140, 150, 155, 160, 165, 170

et 200 °C) autour du point d'isomérisation de l'isomère γ en α (160 °C à pression atmosphérique) et selon deux zones d'introduction dans l'extrudeuse (Z1 et Z3). Le Styron 678E a été sélectionné en raison de son point de fusion très bas comparé à d'autres références de polystyrène (PS), de manière à pouvoir investiguer les modifications en dessous de la température de 160 °C. Les billes de PS extrudé ont été analysées selon le protocole décrit au paragraphe 1.4.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Dépistage de brome sur site par XRF

Parmi les matériaux dépistés, seuls certains isolants ont révélé la présence de brome à leur surface, à des niveaux compris entre 2 et 4,3%. En revanche, l'antimoine n'a pas été détecté. Environ la moitié des matériaux d'isolation testés n'était pas assez dense pour pouvoir réaliser la mesure par XRF, ce qui limite l'applicabilité de cette stratégie mobile et rapide sur les sites d'élevage. Par conséquent, les matériaux d'isolation ont été considérés comme les seuls équipements d'élevage, sources potentielles de BFR (alimentation et environnement extérieur du bâtiment exclus).

2.2. DécaBDE

Sur 23 échantillons d'isolants analysés, aucun n'a révélé la présence de décaBDE supérieure à 0,05% (w/w). Par conséquent, il a été conclu qu'il est peu probable que le décaBDE soit présent dans les bâtiments d'élevage étudiés.

2.3. HBCD

Six des 33 échantillons analysés ont révélé la présence d'HBCD à des taux supérieurs à 1 ppm, compris entre 0.61 et 3.85% (w/w) (Tableau 1). Ces 6 échantillons font partie des 11 qui étaient constitués de polystyrène (PS) et qui ont complètement été dissous par le dichlorométhane. Cette observation est cohérente avec le fait que 80% du marché de l'HBCD sont dédiés à la fabrication de mousses de polystyrène expansées (EPS) et extrudées (XPS) pour l'isolation de bâtiments (Miyake *et al.*, 2009). Cette dissolution complète a permis une quantification précise dans le matériau, révélant une correspondance satisfaisante avec le taux de brome mesuré par XRF et converti en équivalent HBCD (rapports de 79%, 94% et 97% sur les 3 échantillons pour lesquels les deux méthodes ont été utilisées).

En termes de profils, l'isomère β était relativement stable (11-15%) mais les isomères α et γ ont révélé une variabilité importante. En effet, un échantillon de PS expansé (EPS) était dominé par l'isomère γ (70%, 13.1130.3). Cet échantillon était aussi celui présentant

la plus faible teneur en HBCD (0,61%). Les cinq autres échantillons, en PS extrudé (XPS), étaient dominés par l'isomère α (60-80%). En supposant que le HBCD technique est dominé par le γ , cette observation est importante pour mieux comprendre le profil des sources de contamination, puisque un matériau PS ne reflète pas nécessairement le profil d'isomère technique. Une hypothèse serait que l'isolant peut être affecté au cours du temps et des variations de température (isomérisation, dégradation sélective), mais l'hypothèse principale à explorer est l'isomérisation au cours du processus de fabrication sous l'effet de paramètres de pression et de température vraisemblablement suffisants pour induire l'isomérisation du γ en α -HBCD dans le cas de XPS.

Considérant un matériau de polystyrène (PS) contenant 3% d'HBCD et un taux de transfert de l'aliment vers l'œuf de 21.4% (Dominguez-Romero, 2014), l'ingestion de 150 μg de PS par jour suffirait à expliquer que les œufs soient contaminés à 192 ng/g de matière grasse en HBCD, valeur déjà observée au cours de plans de surveillances précédemment conduits par les autorités française. Cette hypothèse apparaît plausible dans le cadre d'un élevage dont l'isolation du bâtiment serait relativement dégradée.

Enfin, un échantillon de mousse de polyuréthane n'a pas révélé la présence de HBCD ni de décaBDE (13.1130.12), alors que le brome a été identifié à 4,3% par XRF. L'élucidation de la nature chimique du brome a été initiée mais nécessite d'être complétée (voir paragraphe 2.5).

2.4. Essai d'extrusion de PS avec HBCD

L'HBCD technique utilisé pour l'essai présente un profil conforme à ce qui est décrit dans la littérature, à savoir 8%, 7% et 85% pour les isomères α , β et γ -HBCD, respectivement. La Figure 1 présente les profils obtenus pour chacun des 14 essais. Dès 140 °C, température la plus basse (et non recommandée) pour travailler du PS en extrusion, le profil est dominé par l'isomère γ et le profil reste relativement stable quelle que soit la température ou la zone d'introduction, à 76%, 14% et 10% pour les isomères α , β et γ , respectivement, ce qui est proche de l'équilibre thermodynamique. La pression et le cisaillement ont donc un effet sensible d'abaissement de la température d'isomérisation. Selon ces résultats, la mousse de polystyrène extrudée (XPS) représenterait une source d'HBCD dominée par l'isomère α . Il serait intéressant d'investiguer le

procédé de fabrication de mousse de polystyrène expansé (EPS).

2.5. Spectrométrie de masse ambiante (DART)

L'acquisition complète dans la gamme m/z 70-1000 a confirmé sans ambiguïté la présence/absence d'HBCD dans chaque extrait d'échantillon ($n=33$).

L'extrait de mousse de polyuréthane contenant du brome (13.1130.12) a montré des signaux bromés inattendus, ce qui confirme la présence de brome dans le matériau isolant correspondant, préalablement révélée par XRF. La faible intensité des signaux pourrait s'expliquer par un faible rendement d'extraction et/ou d'ionisation. Le polyuréthane est un polymère thermodurcissable non dissous dans le dichlorométhane. Il pourrait être lié de manière covalente avec un réactif bromé. La nature chimique du brome dans cet échantillon est en cours d'investigation. Les premiers éléments ont montré la présence de phosphore ainsi que de chlore dans des proportions non négligeables, potentiellement signés de la présence d'une autre famille de retardateurs de flammes.

CONCLUSION

Les sources potentielles (autres que le régime alimentaire ou l'environnement extérieur du bâtiment) de la contamination d'élevages de volaille et de porc en RFB ont été étudiées en utilisant un appareil XRF portatif pour détecter la présence de brome à la surface de nombreux matériaux utilisés dans les bâtiments agricoles (construction, production). Seuls les matériaux d'isolation ont révélé la présence de brome. Un ensemble de 33 matériaux d'isolation a ensuite été prélevé et analysé. L'HBCD a été identifié et quantifié par LC-MS/MS dans 6 des 11 échantillons de polystyrène à des niveaux allant de 0,61 à 3,85% (w/w). Les profils en isomères ont distingué deux groupes, respectivement dominés par les isomères α (majoritaire) et γ . Un essai de d'extrusion a démontré l'isomérisation du γ -HBCD dominant dans le produit technique en α -HBCD, même à faible température sous l'effet probable de la pression et/ou du cisaillement. En outre, une substance inconnue a été observée dans un échantillon de mousse de polyuréthane contenant environ 4,3% de brome, en utilisant un instrument DART-HRMS. Des investigations complémentaires sont nécessaires pour identifier sa structure chimique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. EFSA, 2011, Scientific Opinion on Hexabromocyclododecanes (HBCDDs) in Food, EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), EFSA Journal 2011;9(7):2296.
2. Miyake Y et al (2009), Organohalogen Comp. 71:743-748.
3. Dominguez-Romero E, Cariou R, Baéza E, Vénisseau A, Marchand P, Engel E, Ratel J, Dervilly-Pinel G, Le Bizec B, Hartmeyer P, Travel A et Jondreville C (2014), 11^{èmes} Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, 25–26 mars 2015, Tours.

Tableau 1. Quantification des isomères HBCD et/ou du brome dans les isolants (n=7 positifs sur 33) par LC-MS/MS et par XRF, respectivement. N/A: aucune valeur affichée par l'instrument en raison de la faible densité impliquant l'arrêt de sécurité; LOD=1 ppm; * : Non dissous dans dichlorométhane (mousse de polyuréthane).

| Echantillon | Brome (%, XRF) | HBCD extrait (% , LC-MS/MS) | | | | Profil HBCD (%) | | |
|-------------|-------------------|-----------------------------|----------|---------|----------|-----------------|---------|----------|
| | | Total | α | β | γ | α | β | γ |
| M8F0 | 2.1 | 2.20 | 1.69 | 0.32 | 0.20 | 77 | 14 | 9 |
| 13.1130.3 | N/A | 0.61 | 0.11 | 0.07 | 0.43 | 19 | 11 | 70 |
| 13.1130.5 | 3 | 3.77 | 2.26 | 0.56 | 0.95 | 60 | 15 | 25 |
| 13.1130.8 | N/A | 3.64 | 2.91 | 0.45 | 0.28 | 80 | 12 | 8 |
| 13.1130.11 | 2 | 2.59 | 1.94 | 0.38 | 0.27 | 75 | 15 | 10 |
| 13.1994.4 | N/A | 3.85 | 2.99 | 0.54 | 0.33 | 78 | 14 | 8 |
| 13.1130.12* | 4.3 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | - | - | - |

Figure 1. Profils d'isomères HBCD obtenus à l'issue de l'essai d'extrusion.

