

## Résultats préliminaires de l'emploi de bagasse dans un procédé de remédiation de sols chargés en chlordécone

Belghit H.<sup>1,2</sup>, Mouvet C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>BRGM, Département Environnement et Procédés Innovants, EPI/BGE 3 avenue Claude Guillemin, BP6009, 45060 Orléans Cedex, France

<sup>2</sup>Institut de Chimie Organique et Analytique, UMR CNRS 7311, Université d'Orléans, rue de Chartres, 45100 Orléans, France

[H.Belghit@brgm.fr](mailto:H.Belghit@brgm.fr)

### Résumé

La pollution par la chlordécone des sols et des eaux aux Antilles représente un danger qu'il est urgent de diminuer. Cette molécule persistante montre des taux d'abattements supérieur à 70% suite au traitement de sols par In Situ Chemical Reduction (ISCR), processus combinant une phase biotique et abiotique avec un amendement commercialisé sous le nom de Daramend<sup>®</sup>. Ce procédé permet une réhabilitation écologiquement rationnelle en termes d'espace de traitement utilisé, d'énergie consommée et de ressources utilisées. Notre travail consiste ici à employer comme matière organique le résidu de la canne à sucre, la bagasse. Produite aux Antilles, la bagasse est riche en carbone, et peut, en mélange avec des particules de fer zéro valent, constituer la base d'un processus d'ISCR mettant en œuvre des produits locaux.

A échelle du laboratoire, nous avons étudié la dégradation de la chlordécone dans du sable de Fontainebleau dopé. Quatre conditions de traitement ont été testées : la bagasse seule, le fer zéro valent seul (FZV), un mélange de fer zéro valent et de bagasse, et le Daramend<sup>®</sup>. Les paramètres physico-chimiques (potentiel redox et pH) ainsi que les concentrations de la chlordécone ont été suivis au cours de deux phases d'anaérobiose séparés par une phase d'aérobiose.

Nos premiers résultats montrent entre 16 % à 50% de réduction des concentrations de chlordécone par des traitements de bagasse seule et entre 51% à 71% avec le mélange bagasse/FZV. Bien que la dégradation du pesticide soit apparemment totale avec le FZV, les pH très basiques engendrés rendent ce traitement difficilement applicable sur le terrain. L'addition de la bagasse au FZV diminue le pH à 7,6 permettant un traitement plus compatible avec le maintien des propriétés du sol tout en restant efficace pour dégrader la chlordécone.

*Mots clés : chlordécone, biodégradation, traitement, remédiation, bagasse, fer zéro valent, In Situ Chemical Reduction.*

### I. Introduction

Bien que la chlordécone (CLD) ne soit plus utilisée aux Antilles depuis 1993, elle demeure un véritable enjeu environnemental social et économique majeur. Cet insecticide utilisé dans les bananeraies persiste dans les sols et dans les eaux [1], engendrant une interdiction de la consommation de certains végétaux et poissons. Par ailleurs, un lien entre l'exposition à la CLD et le taux de cancer de la prostate a été mis en évidence [2, 3].

Le plan d'action national « chlordécone Martinique et Guadeloupe » a été adopté par le gouvernement français depuis 2008 afin notamment de limiter la présence de ce pesticide dans les sols et les eaux contaminés. Outre le fait que la CLD soit considérée par la convention de Stockholm comme un pesticide organique persistant (POP), la littérature scientifique fournit très peu d'informations sur sa dégradation qui reste à ce jour un grand challenge. L'équipe de Carver a étudié des poissons et crustacés près d'une zone contaminée en CLD et a détecté de la monohydrochlordécone qui pourrait être produite suite à une dégradation biologique [4] mais qui pourrait également correspondre à des impuretés originellement présentes dans la chlordécone. Orndorff et Colwell ont montré une dégradation de 10% dans des conditions partielles d'aérobie (incubé statiquement sous atmosphère d'air) [5]. Cette étude a également montré que la CLD ne pouvait pas être utilisée comme seule source de carbone par les micro-organismes et qu'une déchloration ne pouvait se faire qu'en présence d'un co-substrat (peptone et extrait de levure). D'autre part, Schrauzer et Katz ont montré que dans des conditions réductrices obtenues par ajout de la vitamine B<sub>12</sub>, la chlordécone pouvait être dégradée formant des métabolites moins chlorés [6]. Ces publications décrivent des conditions de laboratoire difficilement applicables sur le terrain. Une étude bibliographique récente consacrée aux techniques applicables en conditions réelles montre que parmi toutes les techniques « classiques » de décontamination, la biodégradation dynamisée ISCR (*In Situ Chemical Reduction*) et la phytoremédiation sont les techniques qui présentent le meilleur bilan coût-avantage [7]. L'ISCR présente notamment les avantages suivants par rapport à la phytoremédiation : traitement destructif, rendements épuratoires plus élevés et durée du traitement moins importante.

L'ISCR (US patent N°5, 618, 427,2000) [8] met en œuvre un amendement (commercialisé sous le nom de Daramend<sup>®</sup>) composé de matière organique naturelle et de fer zéro valent (FZV), dont les ajouts cycliques accompagnent des alternances de phases réductrices (en anaérobie) et oxydantes (en aérobie). Les premiers essais effectués par le BRGM sur des pilotes de trois types de sols antillais traités par le Daramend<sup>®</sup> ont montré des taux de dégradation allant de 20% (Andosol) jusqu'à 70% (Nitisol et Ferralsol) pour un traitement d'une durée de six mois [9].

La remédiation de la chlordécone concerne aujourd'hui des centaines d'hectare de sol Antillais ; il est donc nécessaire de trouver des moyens d'interventions les moins coûteux possibles tout en gardant une bonne efficacité de dégradation de la chlordécone.

Dans cette étude, la bagasse a été choisie comme la matière organique impliquée dans la dégradation de la chlordécone. La bagasse a l'avantage d'être une source de carbone à libération lente qui, mélangée à des particules de fer zéro valent, pourrait avoir un vrai potentiel de dégradation de chlordécone. Les expériences présentées ci-dessous ont deux objectifs : (1) estimer l'influence de la matière organique (bagasse), du fer zéro valent et de leur mélange sur le potentiel redox et sur le pH des sols à décontaminer (2) fournir des estimations quantitatives (chlordécone) et qualitatives (composés de dégradation) en fonction du potentiel redox et du pH du milieu atteint après deux phases d'anaérobie et une phase d'aérobie. Dans le but de mieux comprendre les phénomènes impliqués, le sable de

Fontainebleau dopé en chlordécone a été choisi comme milieu moins complexe qu'un vrai sol contaminé.

## II. Matériels et méthodes

### 1. Préparation de la bagasse

La bagasse a été fournie par la rhumerie Saint James en Martinique. Le matériau a été mis à l'étuve à une température de 40°C pendant 3 jours, puis stocké à l'abri de l'humidité à température ambiante.

Des tests préliminaires ont montré que plus la granulométrie est diminuée, plus la surface de contact est augmentée et plus le milieu est réducteur. Pour cette raison, une granulométrie inférieure à 2mm a été choisie. Afin d'atteindre cette taille homogène de particules, la bagasse a été broyée deux fois de suite avec un broyeur à couteaux avec une vitesse de rotation à 50 Hz, puis stockée dans des fûts à l'abri de l'humidité.

### 2. Dopage du sable et préparation des microcosmes

Le dopage du sable de Fontainebleau est une étape cruciale où il est important de prendre beaucoup de précaution et de soin dans les étapes de mélange et de brassage afin d'obtenir un mélange contaminé le plus homogène possible. De plus, l'équipe de Brinch [10] a montré que l'utilisation de solvants organiques dans le sol pourrait avoir des conséquences néfastes sur la communauté microbienne, rendant moins efficace la dégradation des composés.

Afin d'aboutir à un volume de sable de Fontainebleau contaminé par la chlordécone, nous procédons en deux étapes. Au cours de la première étape, 800g de sable de Fontainebleau non contaminé sont dopés avec 65 mg de chlordécone pure diluée dans 10ml d'acétone. Après brassage, le mélange est laissé pendant 48h sous hotte aspirante à température ambiante afin d'évaporer l'acétone. Au cours de la seconde étape, le sable dopé est mélangé à 3kg de sable non contaminé, et l'ensemble est brassé manuellement pendant 1h à l'aide d'une spatule en inox afin d'avoir un volume homogène.

Pour minimiser les variations dues à l'hétérogénéité de l'échantillon, la totalité du sable contaminé à la chlordécone est quarté à l'aide d'un diviseur à riffle jusqu'à obtenir une quantité unitaire quartée de 90 g. Cette masse finale de sable contaminé est introduite dans des flacons de 150 mL non stérilisés et fermés à l'aide d'un couvercle. Trois flacons ont ainsi été conditionnés pour chacune des quatre conditions expérimentales étudiées à savoir : i) sable contaminé avec ajout de fer zéro valent, ii) sable contaminé avec ajout de bagasse, iii) sable contaminé avec ajout de l'amendement Daramend® (iv) sable contaminé avec ajout de bagasse et fer zéro valent (Tableau 1).

Des amendements (bagasse, fer zéro valent, bagasse et fer zéro valent, et Daramend®) représentant 2% de la masse totale du sable ont été ajoutés à chaque microcosme. Chaque traitement est réalisé à saturation d'eau, à une température ambiante moyenne de  $23 \pm 2$  °C et mis sous flux d'azote durant la phase d'anaérobie. A la fin de la phase anaérobie, le sable est

aéré à l'aide d'une spatule en inox et laissé à l'air durant la phase d'aérobie. Avant chaque nouvelle phase d'anaérobie, le volume d'eau est réajusté au volume initialement ajouté.

**Tableau 1. Préparation des microcosmes avec la masse moyenne des triplicats du sable  $\pm$  l'écart type et % des amendements pour chaque traitement.**

Type de traitement	Fer zéro valent ajouté	Bagasse ajoutée	Daramend® ajouté
Témoin	0 %	0 %	0 %
Bagasse	0 %	2 %	0 %
Daramend	0 %	0 %	2 %
Bagasse/ FZV	0,40 %	1,60 %	0 %
FZV	2 %	0 %	0 %

### 3. Quantification et suivi des paramètres physico-chimiques

Les potentiels redox et les pH de chaque traitement sont suivis au cours des phases d'anaérobie. Les mesures des potentiels redox et des pH sont effectuées sous flux d'azote à l'aide d'électrodes combinées Ag/AgCl saturée en KCl (bioblock) préalablement calibrées par un tampon de pH 4 et 7.

A la fin des phases d'anaérobie, 15g de sables traités et témoins sont prélevés et séchés à l'étuve à 40°C pendant 72h. Les composés d'intérêts sont ensuite extraits du sable par fluide pressurisé ASE®. Les rendements d'extraction ont été suivis par l'ajout du transnonachlor comme étalon interne.

L'analyse est réalisée par la chromatographie en phase gazeuse (GC 450 Bruker) couplée à la spectrométrie de masse triple quadripôle (300MS Bruker). Les composés sont séparés sur une colonne 30m, 0.25mm de diamètre interne et contenant une phase de 0,25µm de 100% diméthylpolysiloxane (Rxi-1MS, réf 13323, Restek). La colonne est chauffée à 50°C pendant 1,1 minute puis jusqu'à 250°C avec un gradient de 30°C/min et enfin à 310°C à 10°C/min et en isotherme pendant 1,5 min.

La ligne de transfert est à 310°C. La source d'ionisation en impact électronique est à 250°C. La détection est réalisée mode SRM (*Single Reaction Monitoring*) avec deux ions sélectionnés pour chaque composé pour l'identification et la quantification avec une limite de quantification de 0,05 mg/kg.

Les taux d'abattements sont calculés par la formule suivante :

$$\text{Taux d'abattement (\%)} = \left( 1 - \frac{\text{concentration de l'échantillon traité}}{\text{concentration de l'échantillon témoin}} \right) \times 100\%$$

## III. Résultats et discussions

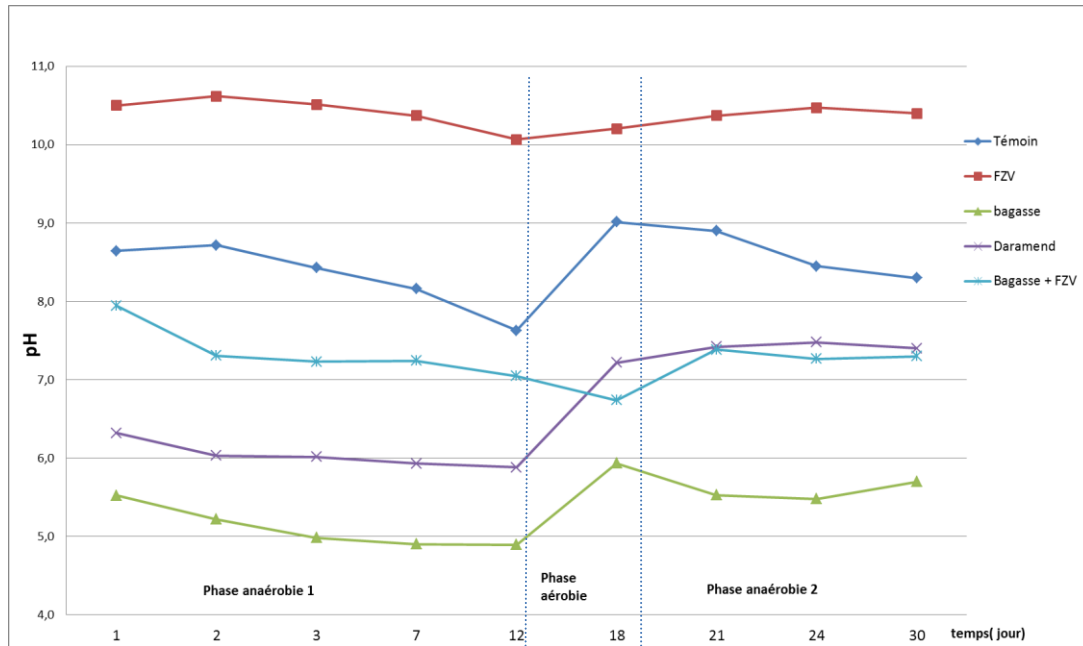
### 1. Influence des traitements sur le potentiel d'oxydo-réduction et le pH

L'évolution des pH et des potentiels redox en fonction des amendements sur deux phases d'anaérobie séparés par une phase d'aérobie sont représentés respectivement sur la figure 1 et

la figure 2. Durant la phase d'aérobie l'eau s'évapore totalement et il est donc impossible de mesurer les potentiels redox et les pH.

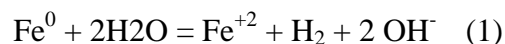
### 1.1. Influence des traitements sur le pH

Dès le premier jour de la phase 1 d'anaérobie, le pH des milieux varie en fonction des amendements. Le pH du sable de Fontainebleau saturé en eau passe de 8,6 à 7,5 avec l'ajout de mélange bagasse / fer zéro valent, à 6,3 pour le Daramend® et à pH 5,5 pour un amendement composé uniquement de bagasse. A contrario, le pH du sable traité avec le fer zéro atteint la valeur de pH = 10,5 (Figure 1).



**Figure 1. Evolutions cinétiques du pH en fonction du type d'amendement sur deux phases d'anaérobie séparées par une phase d'aérobie. Moyenne de trois répliquats (l'écart-type est reporté mais invisible car très faible).**

Pour un même amendement, la valeur du pH varie de  $\pm 0,8$  entre les deux phases d'anaérobie. Le pH est également impacté par l'aération du sol (phase d'aérobie), les plus fortes variations ( $\pm 1,5$ ) sont observées pour les témoins et les sables traités par le Daramend® et l'ajout de bagasse seule, alors que les pH des sables traités par l'ajout de FZV seul et le mélange bagasse/FZV sont moins impactés par la phase d'aérobie. Cependant ces variations ne peuvent actuellement être interprétées. L'effet du FZV sur le pH peut par contre être facilement expliqué : le fer zéro valent réduit l'eau et produit des  $\text{OH}^-$  selon l'équation (1) ce qui par conséquent augmente le pH et ce que l'on soit en phase aérobie ou anaérobie.



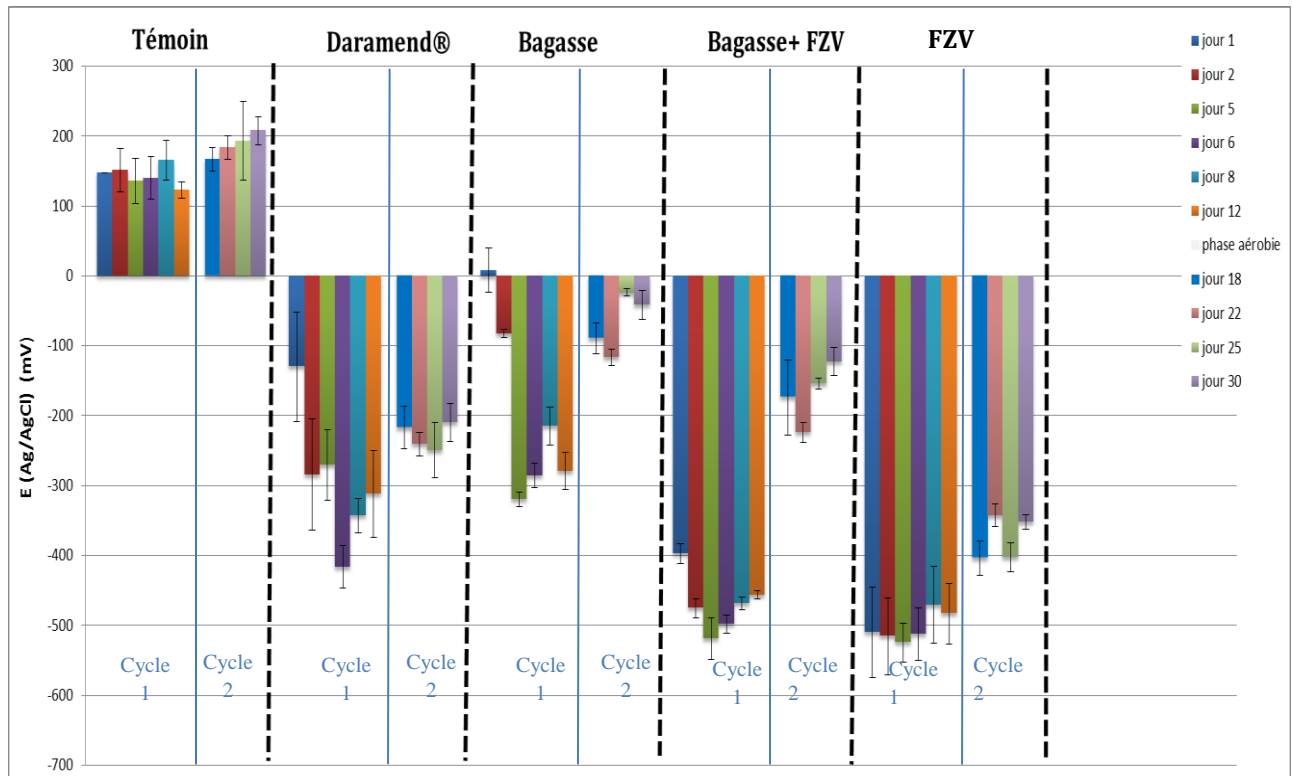
Cette forte augmentation du pH pourrait avoir des conséquences néfastes sur les sols.

Des amendements du type mélange bagasse/fer zéro valent qui aboutissent à un pH de 7,5 seraient plus adaptés aux sols. Toutefois, ces valeurs de pH sont obtenues dans un sable de Fontainebleau et ne sont pas forcément extrapolables dans le cas d'études sur des sols. C'est

pourquoi, les travaux seront effectués par la suite sur des sols représentatifs antillais de type Nitisol, Ferralsol et Andosol.

### 1.2. Influence des traitements sur le potentiel redox

La figure 2 représente les valeurs moyennes des potentiels redox mesurées sur triplicats avec leurs écarts types.



**Figure 2. Histogramme représentant la variation du potentiel d'oxydo-réduction (mV) (par rapport à l'électrode de référence (Ag/AgCl/KCl saturé) en fonction des jours et du type d'amendement. Valeur moyenne et écart-type de trois réplicats.**

Le potentiel redox des échantillons témoins (sable sans amendement) ne présente pas de variations majeures sur la phase 1 et 2 d'anaérobie. Malgré les conditions anoxiques visées par la saturation en eau et la mise sous flux d'azote, les potentiels redox des témoins ont une valeur positive de  $161 \pm 27$  mV ce qui représente des conditions oxydantes.

L'amendement de bagasse, fer zéro valent, un mélange bagasse/fer zéro valent et Daramend® fait chuter le potentiel redox à des conditions réductrices dès le 1<sup>er</sup> jour de la phase d'anaérobie. Globalement les potentiels redox augmentent lors de la phase d'anaérobie 2 après l'aération du sable (phase d'aérobie). Cependant les potentiels restent négatifs et le milieu réducteur est maintenu sous les quatre conditions tout au long des 30 jours d'expérimentation. Le potentiel reste de même ordre de grandeur avant et après la phase d'aérobie en ce qui concerne l'ajout de Daramend® alors que le mélange bagasse/FZV représente un potentiel redox deux fois plus faible après la phase d'aérobie qu'au début de cette dernière.

## 2. Influence des traitements sur la dégradation de la chlordécone

Les sables témoins et amendés ont été prélevés à la fin de la phase 1 et de la phase 2 d'anaérobie. L'évolution de la dégradation de la chlordécone sur la première phase et sur la deuxième phase sera discutée. Pour finir, nous nous intéresserons aux métabolites ainsi formés.

### 2.1. Concentrations en CLD à la fin de la 1<sup>e</sup> phase d'anaérobie

Les échantillons témoins n'ayant subi aucun traitement représentent les concentrations initiales de la chlordécone. Les traitements par le Daramend<sup>®</sup> et par le mélange bagasse/Fer zéro valent diminuent la concentration de la chlordécone respectivement de 44 % et 52% par rapport à la valeur initiale. Le traitement par la bagasse seule dégrade 35% de la chlordécone alors que l'ajout du fer zéro valent dégrade la chlordécone pratiquement à 100%.

Ces résultats montrent que lors de la première phase anaérobie l'utilisation de la bagasse seule peut dégrader une partie de la CLD et qu'un mélange de bagasse/FZV peut être aussi efficace que l'amendement commercial. D'autre part, le traitement par le FZV montre un excellent taux d'abattement.

### 2.2. Concentrations en CLD à la fin de la 2<sup>ème</sup> phase d'anaérobie

Bien que les échantillons témoins n'aient subi aucun traitement au cours de la deuxième phase d'anaérobie, une diminution des concentrations de chlordécone est observée. Cette baisse peut être due à l'hétérogénéité du sable ou à une réponse erronée des méthodes analytiques mises en œuvre. Ne pouvant éliminer totalement aucune de ces deux hypothèses, la dégradation de la chlordécone sera discutée ci-dessous par rapport aux concentrations initiales des échantillons témoins phase 1 et par rapport aux concentrations retrouvées dans les échantillons témoins phase 2.

Le traitement par ajout de la bagasse réduit la concentration de CLD à  $8,8 \pm 1,4$  mg/kg correspondant à un abattement de 16% par rapport à la [CLD] témoin phase 2, et à 50% par rapport à la concentration initiale de 17,7 mg/kg. La chlordécone n'est plus détectée après le traitement par ajout de FZV, ce qui laisse penser que la dégradation est totale (l'effet éventuel du pH de 10 sur le rendement de l'extraction devra toutefois être vérifié). Le traitement par un mélange de bagasse et fer zéro valent réduit la CLD à 51% par rapport à la [CLD] témoin phase 2, soit 71 % par rapport aux concentrations initiales dopées. Quant au traitement commercial Daramend<sup>®</sup>, il montre une dégradation de 17 % par rapport aux concentrations des échantillons témoins phase 2, soit 51 % par rapport à la concentration initiale.

La dégradation de la chlordécone par ajout de la bagasse seule et par ajout d'un mélange FZV/bagasse est confirmée lors de la phase 2. Les concentrations finales de la chlordécone des deux traitements Daramend<sup>®</sup> et bagasse seule sont très proches. Toutefois, le taux d'abattement de la chlordécone est amélioré par un mélange bagasse/FZV. Bien que les potentiels redox du FZV et du mélange FZV/ bagasse soient assez proches pendant la phase 1 d'anaérobie, les taux d'abattement sont différents, indiquant que la combinaison d'un

traitement biotique et abiotique rend le mécanisme de déchloration plus complexe que les mécanismes généralement connus pour le FZV seul [11].

**Tableau 2. Concentration de la chlordécone (mg/kg ; moyenne des triplicats  $\pm$  l'écart type) pour chaque traitement. Quantification à la fin de la phase 1 et phase 2 d'anaérobie.**

	Phase 1			Phase 2			
	[CLD] mg/kg	Ecart type	% d'abattement phase 1	[CLD] mg/kg	Ecart type	% d'abattement phase 1	% d'abattement phase 2
<b>témoin</b>	17,7	0,3	-	10,5	0,84	-	-
<b>Bagasse</b>	11,6	1,1	35%	8,8	1,37	50%	16%
<b>FZV</b>	0,0	0,0	100%	0,0	0,0	100%	100%
<b>bagasse/FZV</b>	8,5	0,3	52%	5,1	1,0	71%	51%
<b>Daramend</b>	9,9	1,1	44%	8,7	0,5	51%	17%

### 2.3. Les métabolites

La diminution des concentrations en chlordécone est accompagnée par l'apparition de produits de dégradation décelés sous forme de pics chromatographiques (Figure 3). Pour les témoins, nous avons pu identifier la CLD au temps de rétention ( $t_r$ ) de 20,6 min, le transnonchlor (l'étalon interne) à  $t_r=19,2$  min, et la 5b-hydrochlordécone à  $t_r=19,6$ min. Les chromatogrammes des autres traitements présentent d'autres pics qui sont des métabolites de la chlordécone. Le traitement composé uniquement du FZV et qui dégrade à 100% la CLD présente le plus grand nombre de pics chromatographiques.

L'absence d'étalons analytiques et le peu d'informations disponibles aujourd'hui sur la dégradation de la CLD font de l'identification des métabolites un vrai challenge. Des recherches sont en cours afin d'identifier les produits de dégradation par différentes techniques analytiques.



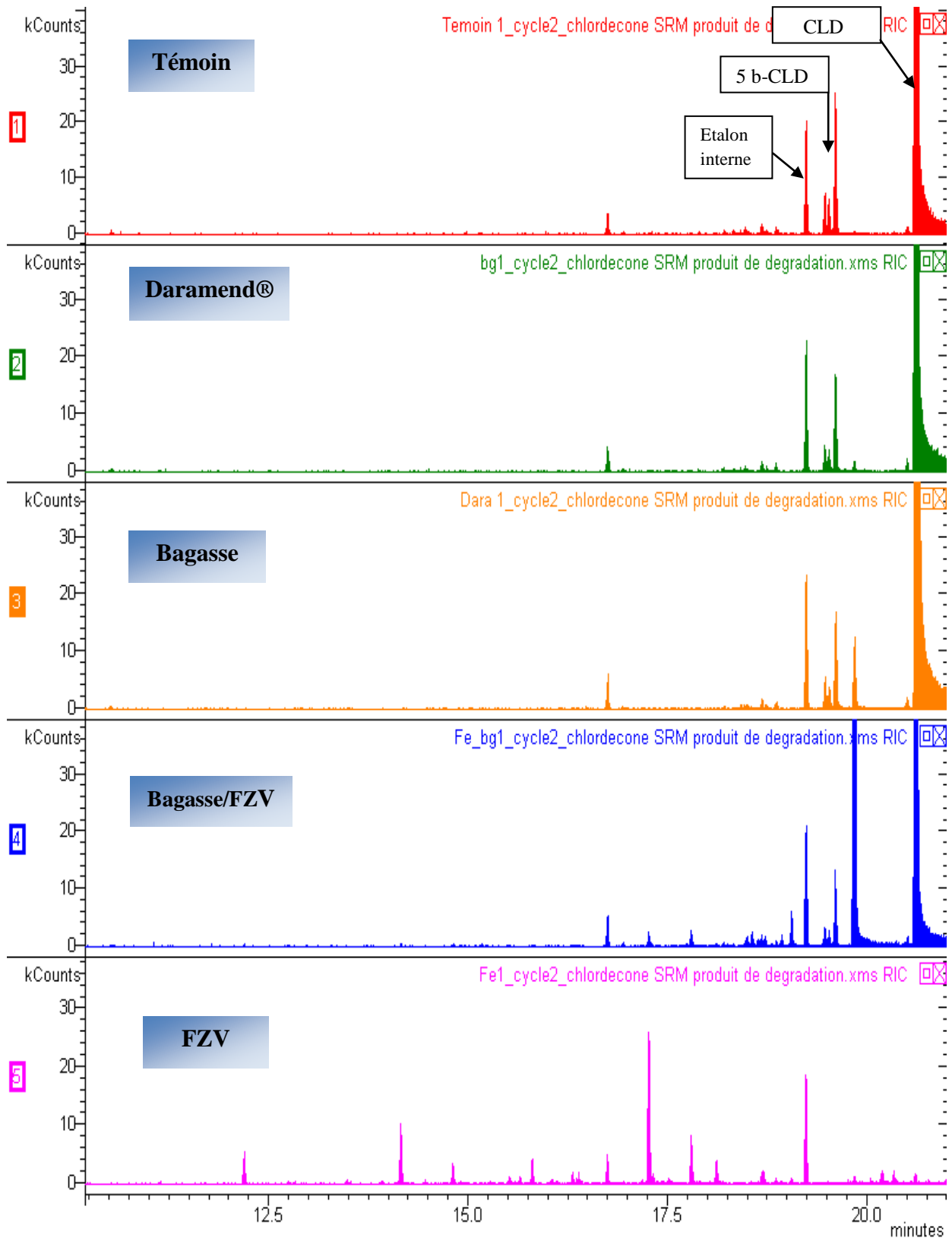


Figure 3. Chromatogrammes par GC-MS du sable dopé témoin et du sable contaminé après ajout de Daramend®, de bagasse, du mélange bagasse/FZV ou de FZV.

## IV. Conclusion

La dégradation de la chlordécone ajoutée à du sable de Fontainebleau a été étudiée avec quatre amendements différents : bagasse seule, FZV seul, mélange de bagasse/FZV, et Daramend<sup>®</sup>. Les quatre conditions rendent les milieux réducteurs sur la durée des deux phases d'anaérobiose.

Les traitements Daramend<sup>®</sup> et bagasse seule donnent des taux d'abattelements très proches pouvant atteindre 51 %. La dégradation de la chlordécone est améliorée par un traitement composé d'un mélange fer zéro valent et bagasse, et est totale par un traitement composé uniquement de fer zéro valent. En revanche, le milieu traité par le FZV présente des pH de 10,1 à 10,6 qui pourraient être néfastes pour les fonctions d'un vrai sol. En-dehors du Daramend<sup>®</sup> commercial, le mélange composé de bagasse et FZV semble être le plus adapté pour une application éventuelle sur le terrain avec un pH de 7,5 et des taux d'abattement compris entre 51% et 71%.

Plusieurs points restent à éclaircir. En premier lieu, il sera important d'élucider les mécanismes impliqués dans la déchloration. Les travaux qui sont en cours visent à mieux comprendre les rôles respectifs de la bagasse et du fer zéro valent. Il faudra, en second lieu, pouvoir identifier clairement les métabolites formés. Cette identification permettra d'étudier les effets du taux de bagasse ajoutée sur la formation des métabolites. En parallèle, une étude (éco)toxicologique sera effectuée sur les produits de dégradations formés. Enfin, la dégradation de la chlordécone sera étudiée sur des vrais sols antillais contaminés du type Nitisol, Ferralsol et Andosol.

## V. Remerciement

La relecture et les commentaires critiques du professeur Benoît Maunit (ICOA, Univ. Orléans) ont amélioré la qualité de ce manuscrit.

## VI. Références bibliographiques

1. Cabidoche, Y.M., et al., *Long-term pollution by chlordécone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue*. Environmental Pollution, 2009. **157**(5): p. 1697-1705.
2. Multigner, L., *[Chlordécone and cancer in French-West Indies]*. Rev Epidemiol Sante Publique, 2008. **56**(4): p. 233-4.
3. Multigner, L., et al., *Chlordécone exposure and risk of prostate cancer*. Journal of Clinical Oncology, 2010. **28**(21): p. 3457-62.
4. Carver, R.A. and F.D. Griffith, *Determination of Kepone dechlorination products in finfish, oysters, and crustaceans*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1979. **27**(5): p. 1035-1037.
5. Orndorff, S.A. and R.R. Colwell, *Microbial transformation of kepone*. Appl Environ Microbiol, 1980. **39**(2): p. 398-406.
6. Schrauzer, G.N. and R.N. Katz, *Reductive dechlorination and degradation of mirex and kepone with Vitamin B12*. Bioinorganic Chemistry, 1978. **9**(2): p. 123-43.
7. Colombano S., S.A., Guerin V., Bataillard P., Bellenfant G., Beranger S. et al. , *Quelles techniques pour quels traitements-Analyse coûts-bénéfices*. 2010. p. 397.

8. *United States Patent, 2000. Composition and method for dehalogenation and degradation of halogenated organic contaminants. US Patent N° 5, 618, 427, 5 pp. p. 618, 427, 5 pp.*
9. Dictor M.C., Mercier A., Lereau L., Amalric L., Bristeau S., Mouvet C., *Décontamination de sols pollués par la chlordécone. Validation de procédés de dépollution physico-chimique et biologique, étude des produits de dégradation et amélioration de la sensibilité analytique pour la chlordécone dans les sols. Rapport final. BRGM/RP-59481-FR.*
10. Brinch, U.C., F. Ekelund, and C.S. Jacobsen, *Method for Spiking Soil Samples with Organic Compounds. Applied and Environmental Microbiology, 2002. 68(4): p. 1808-1816.*
11. Matheson, L.J. and P.G. Tratnyek, *Reductive Dehalogenation of Chlorinated Methanes by Iron Metal. Environmental Science & Technology, 1994. 28(12): p. 2045-2053.*