



Étude de l'état de santé des rivières karstiques en relation avec les pressions anthropiques sur leurs bassins versants.

Rapport de la tranche 2B

VOLET

Evaluation des dangers et risques liés aux contaminants chimiques

Caractérisation de la dangerosité de différents contaminants. Evaluation de leurs impacts relatifs sur la qualité des eaux par la confrontation de données acquises *in situ* et de résultats expérimentaux obtenus *in vitro*

Pierre-Marie Badot, Axelle Chiffre, François Degiorgi

14 novembre 2017

INTRODUCTION

Depuis plusieurs dizaines d'années, un faisceau de signes, mesures et observations montrent que les rivières de Franche-Comté subissent une érosion lente mais continue de leurs fonctions biologiques :

- des proliférations algales récurrentes ;
- des phénomènes de colmatages des fonds par des fines ou des feutrages organiques de plus en plus intenses ;
- des eaux en période de crue présentant fréquemment une teinte "chocolat" lorsque le débit dépasse le module ;
- une raréfaction voire une disparition d'espèces réputées sensibles (grands plécoptères, écrevisses pieds blancs, éphémères, trichoptères...) ;
- des captures de salmonidés par les pêcheurs montrant une nette tendance à la baisse ;
- une remontée des espèces médianes ou basales (comme l'ombre ou de nombreuses espèces d'insectes aquatiques) vers les secteurs apicaux ;
- ...

Cette évolution négative semble s'être affirmée, sinon accélérée, depuis peu. Des mortalités massives de salmonidés sont survenues en 2010 et 2011, notamment au moment de leur période de reproduction.

De tels processus d'altération ont également été observés sur d'autres cours d'eau calcaires franc-comtois. Dans le cas de la Loue, ces phénomènes ont été d'autant plus spectaculaires que cette rivière était parmi les moins perturbées et présentait des stocks de salmonidés encore très importants jusqu'en 2008. La Loue et ses affluents constituent un observatoire représentatif pour rechercher les origines de l'appauvrissement général des ressources écologiques des rivières karstiques.

Depuis juillet 2012, le laboratoire Chronoenvironnement (UMR 6249, CNRS/UFC/UBFC) a entrepris avec le soutien financier de l'agence de l'eau Rhône Méditerranée Corse, puis du conseil régional de Bourgogne - Franche-Comté et du conseil départemental du Doubs, un programme de recherches centré sur ce réseau hydrographique pour atteindre les objectifs suivants :

1. caractériser de manière approfondie l'état de santé actuel de la Loue et ses évolutions avec des méthodes plus précises que celles employées dans les suivis réglementaires de la qualité des eaux réalisés dans le cadre de la directive cadre sur l'eau ;

2. appréhender les mécanismes de perturbations des fonctions biologiques du cours d'eau par l'analyse conjointe des compartiments fluviaux et des principaux étages de l'édifice biologique ;
3. identifier les contaminants présents dans les différents compartiments de l'écosystème et leurs voies de transferts, hiérarchiser leurs impacts possibles, examiner leurs sources potentielles à l'échelle du bassin versant ;
4. explorer les relations existant entre l'évolution des activités socio-économiques du bassin versant de la Loue d'une part et la qualité des eaux et les capacités d'autoépuration de la rivière d'autre part.

La première tranche (tranche 1), réalisée entre juillet 2012 et fin 2014, s'est essentiellement attachée aux deux premiers objectifs. Elle a permis d'établir un diagnostic détaillé de l'état de la rivière et de sérier les hypothèses et scénarii visant à rendre compte des dégradations observées dans la rivière.

La deuxième tranche (tranche 2A) a été conduite de juillet 2012 à septembre 2015. Les investigations en matière de contaminants ont été effectuées dans différentes matrices environnementales (eaux, effluents de STEP, MES, sédiments, biote) et ont permis l'identification de multiples contaminants : pesticides chlorés, pyrèthrinoides, hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou bien encore résidus médicamenteux. Nous avons également établi que ces contaminations sont éminemment variables (i) en ce qui concerne leur nature chimique, (ii) leur occurrence temporelle et (iii) leur localisation spatiale, sans qu'il soit à ce stade possible d'identifier des *patterns* réguliers.

Les résultats obtenus au cours de ces deux premières tranches ont également montré que les contaminations identifiées conduisent de manière non anecdotique à des dépassements de valeurs réglementaires et/ou de valeurs repère. Ces contaminations atteignent ainsi des niveaux suspectés d'induire des effets toxiques avérés.

Au cours de la troisième tranche (tranche 2B), nous avons donc entrepris de caractériser quantitativement la dangerosité des principaux contaminants organiques persistants mis en évidence dans l'écosystème aquatique, afin d'être en mesure d'évaluer dans quelle mesure ces contaminants contribuent effectivement aux dysfonctionnements écologiques constatés seuls ou en conjonction avec d'autres facteurs stressants.

Le présent rapport a donc pour objet de rendre compte des investigations destinées à caractériser la dangerosité de différents contaminants précédemment mis en évidence dans la Loue, d'évaluer leurs impacts relatifs et leurs éventuelles interférences avec les capacités biogènes des cours d'eau en confrontant les données acquises *in situ* et les résultats expérimentaux obtenus *in vitro*.

ETUDE DE LA TOXICITE DE LA CYPERMETHRINE PRESENTE DANS LES SEDIMENTS VIS A VIS D'UN AMPHIPODE AQUATIQUE *GAMMARUS PULEX* L.

Introduction

Les pesticides et les biocides sont largement distribués dans l'environnement. Ils sont présents dans de très nombreux milieux et sont parmi les contaminants suscitant le plus d'inquiétudes (Ingersoll *et al.* 2001 ; Mehler *et al.* 2011 ; Moschet *et al.* 2014)¹. Dans le monde, les contaminations des écosystèmes d'eau douce par ces molécules d'origine domestique, urbaine ou agricole sont fréquentes (Bartlett *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2013 ; Palmquist *et al.*, 2011 ; Weston and Lydy, 2010)².

Ces contaminants atteignent les eaux de surface en empruntant différentes voies : ruissellement, le dépôt direct de pulvérisations transportées par le vent, effluents de stations d'épuration rejetés directement dans les cours d'eau (Palmquist *et al.*, 2011)².

En raison de leur hydrophobicité et de leur faible solubilité dans l'eau, les pyréthri-noïdes ont une grande aptitude à être adsorbés par le complexe argilo-humique des sols et les particules, ce qui conduit fréquemment à leur accumulation dans les matières en suspension et les sédiments (Palmquist *et al.*, 2011 ; Schwientek *et al.*, 2013)³. Les matières en suspension et les sédiments sont ainsi

¹ Les références bibliographiques des publications citées sont données dans les notes de page lors de leur première occurrence dans le texte.

Ingersoll, C.G., MacDonald, D.D., Wang, N., Crane, J.L., Field, L.J., Haverland, P.S., Kemble, N.E., Lindskoog, R.A., Severn, C., Smorong, D.E., 2001. Predictions of Sediment Toxicity Using Consensus-Based Freshwater Sediment Quality Guidelines. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 41, 8–21. doi:10.1007/s002440010216

Mehler, W.T., Li, H., Lydy, M.J., You, J., 2011. Identifying the Causes of Sediment-Associated Toxicity in Urban Waterways of the Pearl River Delta, China. *Environ. Sci. Technol.* 45, 1812–1819. doi:10.1021/es103552d

Moschet, C., Vermeirssen, E.L.M., Seiz, R., Pfefferli, H., Hollender, J., 2014. Picogram per liter detections of pyrethroids and organophosphates in surface waters using passive sampling. *Water Res.* 66, 411–422. doi:10.1016/j.watres.2014.08.032

² Bartlett, A.J., Rochfort, Q., Brown, L.R., Marsalek, J., 2012. Causes of toxicity to *Hyalella azteca* in a stormwater management facility receiving highway runoff and snowmelt. Part I: Polycyclic aromatic hydrocarbons and metals. *Sci. Total Environ.* 414, 227–237. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.11.041

Liu, Y., Beckingham, B., Ruegner, H., Li, Z., Ma, L., Schwientek, M., Xie, H., Zhao, J., Grathwohl, P., 2013. Comparison of Sedimentary PAHs in the Rivers of Ammer (Germany) and Liangtan (China): Differences between Early- and Newly-Industrialized Countries. *Environ. Sci. Technol.* 47, 701–709. doi:10.1021/es3031566

Palmquist, K., Fairbrother, A., Salatas, J., Guiney, P.D., 2011. Environmental fate of pyrethroids in urban and suburban stream sediments and the appropriateness of *Hyalella azteca* model in determining ecological risk. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 7, 325–335. doi:10.1002/ieam.162

Weston, D.P., Lydy, M.J., 2010. Urban and Agricultural Sources of Pyrethroid Insecticides to the Sacramento-San Joaquin Delta of California. *Environ. Sci. Technol.* 44, 1833–1840. doi:10.1021/es9035573

³ Schwientek, M., Rügner, H., Beckingham, B., Kuch, B., Grathwohl, P., 2013. Integrated monitoring of particle associated transport of PAHs in contrasting catchments. *Environ. Pollut.* 172, 155–162. doi:10.1016/j.envpol.2012.09.004

considérés comme une source majeure de polluants pour les organismes vivants à leur contact (Chiffre *et al.* 2015, 2016)⁴.

En ce qui concerne les rivières du massif jurassien, des contaminations marquées par les pyréthriinoïdes ont été rapportées précédemment par Adam *et al.* (2009, 2010)⁵ avec des concentrations comprises entre 0,8 et 22,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de masse sèche de sédiment. Les résultats obtenus lors de la tranche 2A sont rapportés dans le Tableau 1. Les sédiments contaminés au delà de la limite de quantification présentent des concentrations comprises entre 20 et 40,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS.

Tableau 1. Concentrations en cyperméthrine supérieures à la limite de quantification dans des sédiments échantillonnés dans la Loue en juillet 2013 et septembre 2014. La limite de quantification est égale à 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS. Les pourcentages sont donnés par rapport à la matière organique et au carbone organique.

Période d'échantillonnage	Site	Cyperméthrine $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS	Cyperméthrine $\mu\text{g g}^{-1}$ C	% MO	% CO
Juillet 2013	Scey	29	2,6	2,1	1,1
	Maisières				
	Cléron	23	2,5	1,8	0,9
Septembre 2014	Ouhans-A	20		-	-
	Ouhans-B	40,3		-	-
	Ouhans-C	32,8		-	-

Des contaminations du même ordre de grandeur (0,63 à 30,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS) ont été mises en évidence dans d'autres régions du monde, notamment en Californie (Maund *et al.*, 2002 ; Weston *et al.*, 2004)⁶.

⁴ A. Chiffre, F. Degiorgi, N. Morin-Crini, A. Bolard, E. Chanez, P.M. Badot. 2015. PAH occurrence in chalk river systems from the Jura region (France). Pertinence of suspended particulate matter and sediment as matrices for river quality monitoring, *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (22) 17486-17498, DOI 10.1007/s11356-015-4897-5

A. Chiffre, F. Degiorgi, N. Morin-Crini, A. Bolard, E. Chanez, P.M. Badot. 2016. How to Assess Temporal Changes of Point and Diffuse Contamination in a Rural Karstic Watershed ? Relevance of Suspended Particulate Matter (SPM) for Efficient Monitoring, *Water, Air, & Soil Pollution*, DOI : 10.1007/s11270-016-3044-3, 227:384.

⁵ O. Adam, P.M. Badot, F. Degiorgi, G. Crini. 2009. Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 441-449.

O. Adam, F. Degiorgi, G. Crini, P.M. Badot., 2010. High sensitivity of *Gammarus sp.* juveniles to deltamethrin: outcomes for risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 13, 1402-1407.

⁶ Maund, S.J., Hamer, M.J., Lane, M.C.G., Farrelly, E., Rapley, J.H., Goggin, U.M., Gentle, W.E., 2002. Partitioning, bioavailability, and toxicity of the pyrethroid insecticide cypermethrin in sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 9–15. doi:10.1002/etc.5620210102

Weston, D.P., You, J., Lydy, M.J., 2004. Distribution and Toxicity of Sediment-Associated Pesticides in Agriculture-Dominated Water Bodies of California's Central Valley. *Environ. Sci. Technol.* 38, 2752–2759. doi:10.1021/es0352193

La littérature fait état d'une forte toxicité des pyréthriinoïdes vis à vis des organismes aquatiques non cibles tels que les poissons ou divers invertébrés (Begum, 2005 ; Suvetha *et al.*, 2010)⁷. La cyperméthrine en solution dans l'eau présente notamment une dose létale 50 (DL₅₀) de l'ordre du ng L⁻¹ chez *Gammarus pulex*. Les données disponibles chez un amphipode américain *Hyaella azteca* font état de DL₅₀ de l'ordre du µg kg⁻¹ M.S. pour un sédiment contaminé par la cyperméthrine (Adam *et al.*, 2009 ; Amweg *et al.*, 2005 ; Maund *et al.*, 2002 ; Weston et Lydy, 2010)⁸.

Les gammares sont connus pour être impactés par les pyréthriinoïdes (Cold et Forbes, 2004)⁹. Cependant, il n'existe pas à l'heure actuelle de données quantitatives précises relatives à la toxicité de la cyperméthrine présente dans les sédiments et les matières en suspension chez les gammaridés, alors que les contaminations par les pyréthriinoïdes sont fréquentes dans de nombreux écosystèmes aquatiques d'eau douce en Europe. Cette lacune est d'autant plus dommageable que cette substance, lorsqu'elle contamine les milieux naturels, est essentiellement associée à ces matrices, tandis qu'elle est au contraire peu présente dans la phase aqueuse en raison de sa faible solubilité. La présente étude a été conduite dans le but de combler cette lacune. Le choix s'est porté sur la cyperméthrine car elle fournit un exemple des dangers liés à la contamination des sédiments par des contaminants traces organiques. Evaluer sa dangerosité dans les sédiments fournira des informations utiles pour cerner l'importance de son rôle dans la dégradation de la qualité de la Loue, mais aussi plus généralement pour fixer ou ajuster des seuils réglementaires.

Le gammare a été utilisé car il est considéré comme représentatif des espèces d'invertébrés aquatiques d'Europe. La gamme de concentrations utilisées pour contaminer les sédiments artificiels a été sélectionnée en fonction des concentrations mesurées dans les sédiments naturels et les matières en suspension.

Indépendamment des mortalités qu'elle a présentées, la Loue constitue une rivière représentative des rivières karstiques du massif jurassien. En outre sa renommée en termes de potentiel halieutique rend son choix encore plus pertinent.

L'objectif de cette partie du travail est donc d'évaluer la toxicité aiguë pour Gammarus pulex L. de sédiments artificiellement contaminés par la cyperméthrine à des concentrations environnementalement réalistes et de discuter l'impact possible la contamination des sédiments de la Loue par les pyréthriinoïdes au vu des repères écotoxicologiques obtenus.

⁷ Begum, G., 2005. In vivo biochemical changes in liver and gill of *Clarias batrachus* during cypermethrin exposure and following cessation of exposure. *Pestic. Biochem. Physiol.* 82, 185–196. doi:10.1016/j.pestbp.2005.02.006

Suvetha, L., Ramesh, M., Saravanan, M., 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 29, 44–49. doi:10.1016/j.etap.2009.09.005

⁸ Amweg, E.L., Weston, D.P., Ureda, N.M., 2005. Use and toxicity of pyrethroid pesticides in the Central Valley, California, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 966–972. doi:10.1897/04-146R1.1

⁹ Cold, A., Forbes, V.E., 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquat. Toxicol.* 67, 287–299. doi:10.1016/j.aquatox.2004.01.015

Matériel et méthodes

Analyses chimiques in situ

Les études de terrain ont permis de déterminer les concentrations de cyperméthrine présentes dans les sédiments naturels. Les échantillons ont été prélevés dans la Loue de septembre 2013 à septembre 2014 dans 10 sites différents échelonnés de la source (Ouhans) à Cessey-sur-Loue.

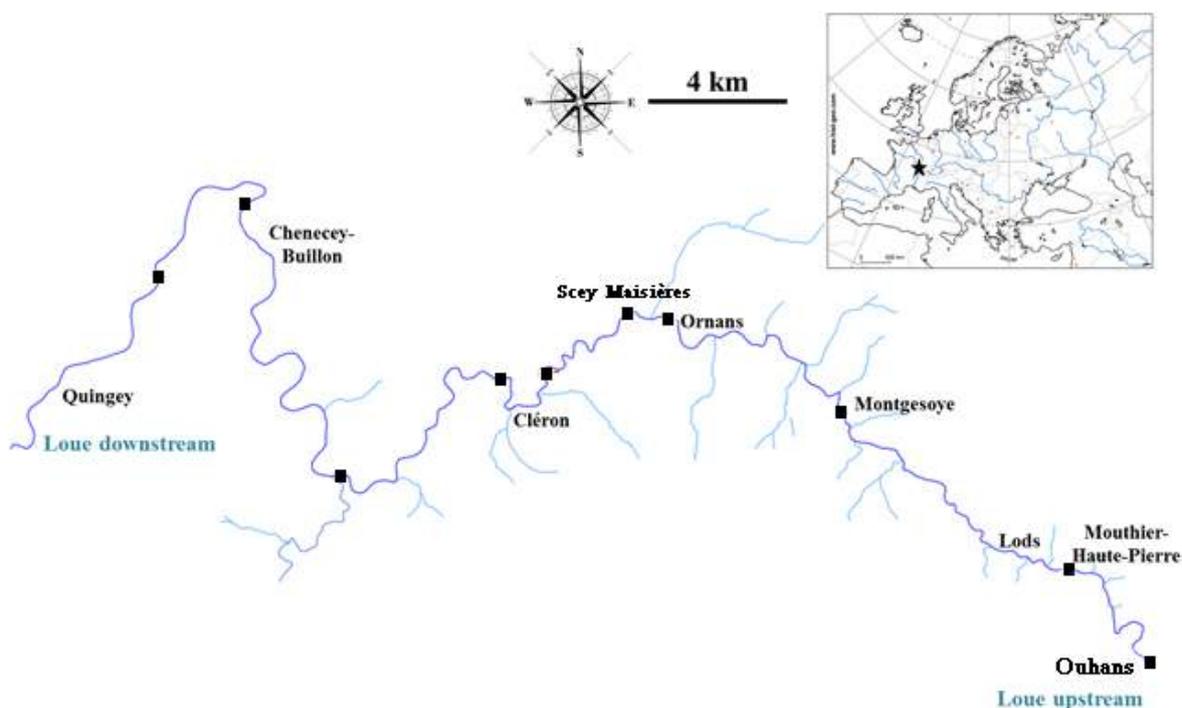


Figure 1. Emplacement des sites d'échantillonnage le long de la Loue.

Organismes biologiques

Les tests écotoxicologiques ont été réalisés chez *Gammarus pulex* L.¹⁰ *G. pulex* est une espèce très commune et abondante dans toute l'Europe et dans les cours d'eau jurassiens. L'espèce est présente depuis les zones apicales des petits ruisseaux jusqu'aux grands fleuves, même si elle trouve les conditions optimales de son développement en tête de bassin des petits cours d'eau (Adam, 2008 ; Adam *et al.*,

¹⁰ embranchement des Arthropodes ; super-classe des Crustacés ; classe des Malacostracés ; sous-classe des Eumalacostracés ; super-ordre des Péracarides ; ordre des Amphipodes ; sous-ordre des *Gammaridae* ; genre *Gammarus* ; espèce *Gammarus pulex*

2009)¹¹.

Les caractéristiques écologiques et biologiques de *G. pulex* en font une espèce de choix pour tester la toxicité de substances chimiques. En effet, sa capacité reproductive est très élevée. Son cycle biologique exclusivement aquatique est relativement long puisqu'il varie de 17 à 30 mois (Welton et Clark, 1980)¹². De ce fait, *G. pulex* est susceptible de subir *in natura* des expositions à des contaminants pendant des temps assez longs. Il peut intégrer des perturbations sur des échelles de temps allant de quelques jours à quelques mois (Alonso *et al.*, 2009). L'espèce joue de plus un rôle prépondérant dans les transferts de matière et d'énergie en raison de son comportement alimentaire : les gammares sont détritivores et prédateurs, mais ils sont également la proie de nombreuses espèces, notamment piscicoles (Mortensen, 1982 ; Crane, 1994 ; Kelly *et al.*, 2002)¹³.

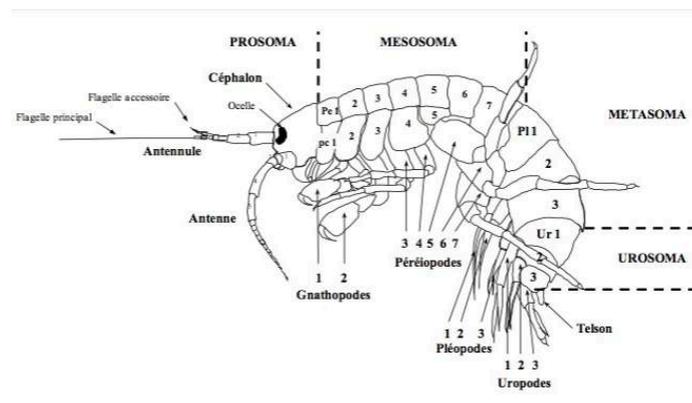


Figure 2. Morphologie générale du genre *Gammarus* (d'après Xuereb, 2009)¹⁴

Les gammares utilisés dans les tests sont issus d'un ruisseau réputé non pollué le ruisseau des Ermites, qui est un petit cours d'eau forestier prenant sa source à 300

¹¹ Adam O., 2008. Impact des produits de traitement du bois sur les amphipodes *Gammarus pulex* (L.) et *Gammarus fossarum* (K.) : approches chimique, hydro-écologique et écotoxicologique. Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté. 253 p.

¹² Welton J.S et Clark R.T., 1980. Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod *Gammarus pulex*. *Journal of Animal Ecology*, 49, p 581-592.

¹³ Mortensen E., 1982, Production of *Gammarus pulex* L. (*Amphipodia*) in a small Danish stream, *Hydrobiologia*, 87, p 77-82.

Crane M., 1994, Population characteristics of *Gammarus pulex* (L.) from five English streams. *Hydrobiologia*, 281, p 91-100.

Kelly D.W., Dick J.T.A. et Montgomery W., 2002. The functional role of *Gammarus* (*Crustacea, Amphipoda*): shredders, predators, or both? *Hydrobiologia*, 485, p199-203.

¹⁴ Xuereb B., 2009. Développement de marqueurs de neurotoxicité et de perturbations endocrines chez l'amphipode *Gammarus fossarum*. Thèse de doctorat, Université de Metz. 231 p.

m d'altitude dans la commune de Rioz (Haute-Saône, N47°24'43" E006°03'32"). Ce ruisseau a été choisi comme site de prélèvement en raison de la faible anthropisation de son bassin-versant et de sa bonne qualité écologique attestée par la présence d'écrevisses à pieds blancs (*Autropotamobius pallipes*).

Les individus sont prélevés à l'aide d'un filet Surber et sont ensuite acclimatés pendant 15 jours au laboratoire. Seuls les gammares exempts de parasites sont conservés. Ils sont maintenus dans de l'eau d'Evian® sous oxygénation, dans une salle climatisée à 16°C, sous un cycle jour/nuit comptant 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. Les gammares sont nourris à l'aide de feuilles d'aulne provenant du site de prélèvement. Les individus adultes utilisées dans les tests ont une longueur supérieure à 6 mm, les individus juvéniles ont une longueur inférieure à 3 mm.

La présente étude a été conduite en accord avec les lignes directrices nationales en matière d'éthique et de bien-être animal.

Préparation des sédiments artificiels contaminés

Pour les expositions en conditions contrôlées, nous avons utilisé de l'eau d'Evian© et un sédiment artificiel préparé au laboratoire. L'eau d'Evian© possède des caractéristiques physico-chimiques semblables à celle d'une eau karstique (Nisbet et Verneaux, 1970)¹⁵. La concentration en calcium de l'eau d'Evian© et son pH proche de la neutralité correspondent aux exigences des gammares (Adam, 2008).

Le sédiment artificiel utilisé a la composition suivante :

- sable (0,2 – 0,5 mm) broyé à 650 tr min⁻¹ pendant 30 sec, lavé puis séché pendant 48 H : 75 %
- argile de kaolin : 22 %
- tourbe à sphaigne blonde (tamisée à 500 µm puis séchée) : 3 %

Le pH est ensuite ajusté à 6,5 par un ajout de carbonate de calcium (CaCO₃) à 0,06%.

Pour chaque concentration testée, 100 g de sédiment artificiel sont introduits dans un bécher en verre et sont contaminés à l'aide de cyperméthrine (Sigma Aldrich). Pour ce faire, une solution mère a été préalablement préparée en diluant 50 mg de cyperméthrine dans 100 mL d'acétone. 100 g de sédiment artificiel sont ensuite contaminés à l'aide de 10 mL de cette solution mère diluée dans l'acétone pour obtenir la gamme suivante de concentrations : 0, 1, 5, 10 et 50 µg kg⁻¹ MS. Après homogénéisation, les béchers sont mis à l'étuve pendant 24H à 38°C afin de réaliser

¹⁵ Nisbet M. et Verneaux J., 1970. Composantes chimiques des eaux courantes. Discussion et proposition de classes en tant que bases d'interprétation des analyses chimiques. *Annales de limnologie*, 6, 2, 161-190.

l'évaporation du solvant.

Une semaine avant le début de l'exposition des gammares, 400 mL d'eau d'Evian® sont ajoutés dans les béciers contenant les 100 mg de sédiment artificiel contaminé. Les sédiments ainsi mis en eau sont laissés au repos pendant 7 jours afin de permettre leur stabilisation. Comme la solubilisation de la cyperméthrine requiert l'utilisation d'un solvant organique (acétone), nous avons testé un témoin acétone comme condition de validité de l'essai. Un témoin contenant uniquement l'eau d'Evian® et le sédiment artificiel non contaminé et sans ajout d'acétone est également réalisé.

Pour chaque essai élémentaire, 10 gammares choisis au hasard sont exposés dans des récipients de 600 mL contenant les 100 g de sédiment contaminé additionnés de 400 mL d'eau d'Evian®. Les récipients sont continuellement oxygénés. Pour chaque modalité testée (témoin eau, sédiment à 0 (témoin acétone), 1, 5, 10 et 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS de cyperméthrine), 6 réplicats sont préparés.

A l'issue de la période d'exposition, les gammares survivants sont dénombrés.

Modélisation des courbes concentrations-réponses

Les résultats obtenus lors des bioessais ont été modélisés à l'aide d'un modèle logistique basé sur l'équation de Hill (1910)¹⁶. La macro Regtox (open source) a été utilisée pour le calcul des concentrations d'effet (CE_x).

Analyse de la cyperméthrine

A l'issue des 10 jours d'exposition, les sédiments artificiels ont été lyophilisés et stockés à température ambiante à l'obscurité jusqu'à analyse et les solutions ont été analysées afin de déterminer leurs concentrations en cyperméthrine.

Les analyses des sédiments artificiels et des solutions aqueuses associées ont été réalisés par le laboratoire analytique environnemental central de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (Suisse).

Les sédiments naturels collectés sur le terrain ont été analysés par ABL Analytics (Délémont, Suisse), laboratoire accrédité conformément à la norme ISO 17025.

La cyperméthrine est extraite par une partition liquide-solide effectuée à partir d'échantillons de 20 g de sédiment. Au cours de cette première étape, l'extraction est

¹⁶ Hill A. (1910) The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *Journal of Physiology*. 40:4-7.

réalisée à l'aide de 30 mL d'acétone puis utilise un mélange acétone-dichlorométhane (1:4 v/v). Dans une deuxième étape, la cyperméthrine est extraite du premier extrait obtenu par une partition liquide-liquide, réalisée par une solution saline de chlorure de sodium, DCMU (40 mL). L'extrait obtenu est filtré sur sulfate de sodium anhydre puis purifié par passage sur une colonne de silicate de magnésium (10 g de Florisil®, 100-200 mesh). Après injection de 20 mL d'hexane, la cyperméthrine est éluée par 40 mL d'hexane-diéthyléther (3:1 v/v). La mesure de cyperméthrine est réalisée à l'aide d'un chromatographe à gaz Varian CP-3800 équipé d'une colonne analytique DB-5 (60 m x 0.25 mm x 0.25 µm) et couplé à un détecteur ECD.

Les teneurs en carbone organique total des sédiments ont été analysées selon les normes européennes par le laboratoire accrédité QUALIO (Besançon, France).

Résultats et discussion

Teneurs en cyperméthrine des sédiments naturels prélevés in situ

La cyperméthrine est présente à une concentration supérieure à 20 µg kg⁻¹ MS dans un certain nombre d'échantillons de sédiments de la Loue échantillonnés en 2013 et 2014 (Tableau 2). Les autres échantillons prélevés ne montrent pas de concentrations en cyperméthrine supérieure à la limite de détection. Le pourcentage de carbone organique dans les sédiments est de l'ordre de 1%.

Tableau 2. Concentrations en cyperméthrine supérieures à la limite de quantification dans des sédiments échantillonnés dans la Loue en juillet 2013 et septembre 2014. La limite de quantification est 20 µg kg⁻¹ MS.

Date de prélèvement	Lieu	Cyperméthrine µg kg ⁻¹ MS	Cyperméthrine µg g ⁻¹ C	% MO	% CO
juillet 2013	Scey Maisières	29	2,6	2,1	1,1
	Cléron	23	2,5	1,8	0,9
septembre 2014	Ouhans-A	20	-	-	-
	Ouhans-B	40.3	-	-	-
	Ouhans-C	32.8	-	-	-

Teneurs en cyperméthrine dans le sédiment artificiel et la phase aqueuse à l'issue des 10 jours d'exposition des gammares

Les concentrations nominales et les concentrations mesurées dans les sédiments artificiels à l'issue des 10 jours d'exposition des gammares sont fournies dans le Tableau 3. Les concentrations moyennes mesurées dans les sédiments sont 0,6, 2,9, 4,4 et 72 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS pour des concentrations nominales respectives de 1, 5, 10 and 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS.

Tableau 3. Concentrations nominales et concentrations finales mesurées en cyperméthrine, pourcentages de matière organique (MO) et de carbone organique (CO) dans les sédiments artificiels à l'issue des expériences. Les concentrations en cyperméthrine (n=3) sont exprimées sous forme de moyennes et d'écart-types. La limite de quantification est égale à 0,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS. Dans la phase aqueuse, la cyperméthrine est mesurée dans un échantillon composite constitué par le mélange des 6 réplicats. La limite de quantification est de 1 ng L^{-1} . MO et CO sont également mesurés dans des échantillons composites.

sédiment artificiel				phase aqueuse
cyperméthrine ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		% MO	% CO	cyperméthrine (ng L^{-1})
concentration nominale	concentration finale mesurée	contenu final	contenu final	concentration finale mesurée
0	0	-	-	0
1	0,6 (0,1)	3.1	1,2	< 1
5	2,9 (0)	3.3	2,4	3
10	4,4 (0,3)	3.6	2,6	4,6
50	72,7 (10,6)	3.0	1,0	5,8

Les concentrations en cyperméthrine mesurées dans le sédiment à l'issue de l'expérience sont plus faibles que les concentrations nominales. Ceci est lié à l'efficacité partielle de la procédure de *spiking*, à une adsorption possible sur les parois des béchers, à la biodégradation et/ou l'absorption par *G. pulex*. De telles différences entre concentrations nominales et concentrations mesurées sont fréquemment signalées dans la littérature (Scanferlato et Cairns, 1990 ; Brinke *et al.*, 2010)¹⁷. La proportion de matière organique (3,0 à 3,6 %) est conforme au contenu

¹⁷ V.S. Scanferlato, J. Cairns. 1990. Effect of sediment associated copper on ecological structure and function of aquatic mesocosms. *Aquatic toxicology*, 18, 23-34.

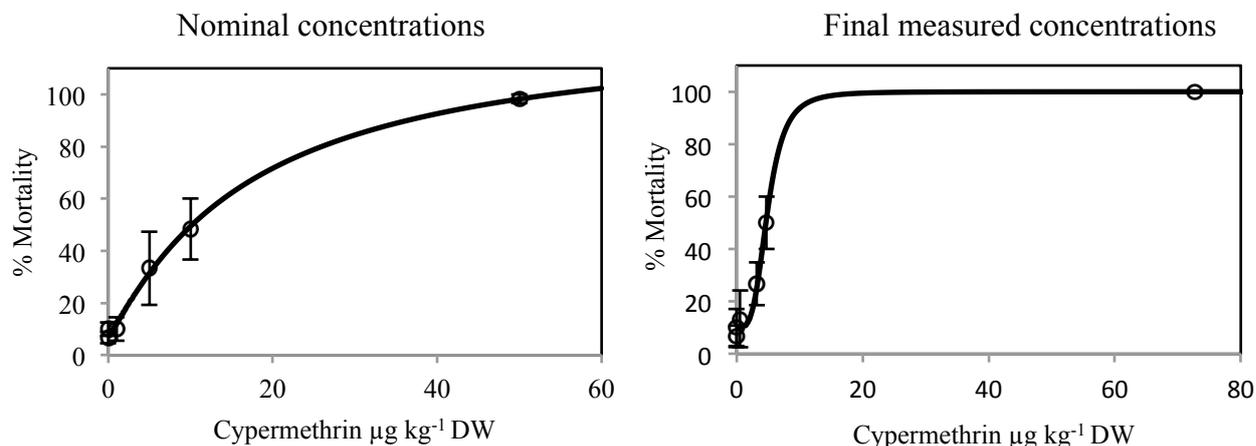
M. Brinke, S. Höss, G. Fink, T.A. Ternes, P. Heininger, W. Traunspurger. 2010. Assessing effects of the pharmaceutical ivermectin on meiobenthic communities using freshwater microcosms. *Aquatic Toxicology*, 99, 126-137

initial du sédiment artificiel (3 % de tourbe de sphaigne). Les teneurs finales en carbone organique varient entre 1,0 et 2,4 %.

Toxicité de la cyperméthrine présente dans les sédiments

Les taux de survie des gammarès sont supérieurs à 80 % à l'issue de l'expérience dans les témoins eau et solvant, ce qui valide les résultats des tests réalisés.

Le pourcentage de mortalité observé chez les gammarès exposés à la cyperméthrine est dépendant de la concentration (Figure 3). La concentration qui provoque la mort de 50% des gammarès (LC_{50-10j}) est égale à 17 µg kg⁻¹ MS lorsqu'elle est exprimée par rapport à la concentration nominale et elle vaut 4 µg kg⁻¹ MS si on l'exprime par



rapport aux concentrations finales mesurées (Tableau 4).

Figure 3. Courbes concentration-réponse obtenues à l'aide du modèle de Hill chez *G. pulex* exposé à la cyperméthrine en fonction de la concentration nominale et de la concentration finale mesurée dans le sédiment artificiel. Les pourcentages de mortalité correspondent aux moyennes et écart-types de 6 réplicats.

Différents auteurs ont étudié la toxicité de la cyperméthrine chez des organismes aquatiques (Anderson *et al.*, 2008 ; Mehler *et al.*, 2011 ; Suvetha *et al.*, 2010)¹⁸. Adam *et al.* (2009) ont mesuré la toxicité de la cyperméthrine en solution aqueuse chez *G. pulex* et montré que ce pyréthriinoïde en solution aqueuse est fortement toxique pour les gammarès, avec une LC_{50-96h} de 90 ng L⁻¹.

¹⁸ Anderson, B.S., Lowe, S., Phillips, B.M., Hunt, J.W., Vorhees, J., Clark, S., Tjeerdema, R.S., 2008. Relative sensitivities of toxicity test protocols with the amphipods *Eohaustorius estuarius* and *Ampelisca abdita*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 69, 24–31. doi:10.1016/j.ecoenv.2007.05.005

Tableau 4. Valeurs de LC₅₀ de la cyperméthrine exprimées par rapport à la concentration nominale et par rapport à la concentration finale mesurée dans le sédiment artificiel. Les valeurs sont également exprimées par rapport à un contenu en carbone de 17,4 g CO kg⁻¹ MS et correspondent à la moyenne des mesures effectuées dans 5 réplicats.

	concentration nominale	concentration mesurée après 10 jours
LC ₅₀ (µg kg ⁻¹ MS)	17	4
LC ₅₀ (µg g ⁻¹ CO)	0,90	0,22

Les teneurs en cyperméthrine mesurées dans la solution aqueuse à l'issue de nos expériences sont inférieures à 5,9 ng L⁻¹ (Tableau 3), c'est-à-dire qu'elles sont toujours très faibles par rapport à cette LC_{50-96h}. Or des réponses toxiques sont néanmoins observées. Ceci indique que les quantités de cyperméthrine solubilisées dans l'eau ne suffisent pas à expliquer les réponses observées chez *G. pulex* et que la toxicité observée est liée à la cyperméthrine présente dans le sédiment.

Symétriquement, ceci montre que les analyses conduites sur la matrice eau peuvent donner des teneurs inférieures aux seuils de toxicité connus pour cette matrice – ce qui tend à laisser penser à une absence de toxicité aiguë - alors même qu'une réponse toxique intense peut se manifester en raison de la contamination de la matrice sédimentaire.

Peu d'informations sont disponibles dans la littérature scientifique en ce qui concerne la toxicité de la cyperméthrine présente dans les sédiments vis à vis des invertébrés aquatiques. La toxicité aiguë a été évaluée entre 0,82 to 1,34 µg g⁻¹ CO chez *Chironomus tentans* (Maund *et al.*, 2002). Elle est estimée respectivement à 1,4 et 60 µg g⁻¹ CO chez les amphipodes estuariens *Ampelisca abdita* et *Eohaustorius estuarius* (Anderson *et al.*, 2008).

Dans le présent travail, la LC_{50-10j} exprimée par rapport à la concentration nominale a été évaluée à 0,90 µg g⁻¹ CO pour *G. pulex* (Tableau 4). Cette valeur est plus élevée que celle rapportée chez *Hyalella azteca* par Maund *et al.* (2002) et Hintzen *et al.* (2009)¹⁹ qui trouvent 0,34 et 0,38 µg g⁻¹ CO pour des sédiments contenant respectivement 1% et 3% de carbone organique. Lorsqu'on exprime la LC_{50-10j} par rapport aux concentrations effectivement mesurées dans le sédiment à la fin de nos expériences, la valeur estimée pour *G. pulex* (0,22 µg g⁻¹ CO) est du même ordre de grandeur que celle rapportée par ces auteurs.

¹⁹ Hintzen, E.P., Lydy, M.J., Belden, J.B., 2009. Occurrence and potential toxicity of pyrethroids and other insecticides in bed sediments of urban streams in central Texas. *Environ. Pollut.* 157, 110–116. doi:10.1016/j.envpol.2008.07.023

Les teneurs usuelles en CO des sédiments fins des rivières salmonicoles sont comprises entre 1 et 3% de la masse sèche. Le sédiment artificiel utilisé dans notre travail est donc représentatif de la teneur en carbone organique des sédiments de la Loue *in natura*.

La plupart des sédiments échantillonnés dans la Loue présentent des teneurs en cyperméthrine inférieures à la limite de quantification (LOQ) pour les sédiments naturels. Cinq échantillons montrent des valeurs supérieures à cette LOQ. Il est nécessaire de distinguer ces deux cas.

Sédiments naturels présentant des concentrations en cyperméthrine supérieures à la LOQ de la technique multirésidus d'ABL Analytics.

Pour ces échantillons, la concentration mesurée est supérieure à la LOQ ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS), mais également à la LC_{50-10j} ($17 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) trouvée dans le présent travail. Ceci est le signe d'une toxicité avérée et forte pour les gammares et vraisemblablement pour d'autres espèces d'invertébrés aquatiques. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus précédemment (Chiffre *et al.*, 2015) qui montrent que les densités de gammares observées dans la Loue sont très inférieures à ce qu'elles sont usuellement dans les zones apicales des rivières karstiques. On peut également en inférer que la densité des espèces de niveau trophique supérieur et notamment celle des populations de poissons sont potentiellement impactées.

Sédiments naturels présentant des concentrations en cyperméthrine inférieures à la LOQ de la technique multirésidus d'ABL Analytics.

La LC_{50-10j} ($17 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) trouvée dans le présent travail est du même ordre que la LOQ. La LC_{50-10j} est un indicateur de toxicité aiguë. Il est par conséquent raisonnable de penser que des concentrations de cyperméthrine non quantifiables par la méthode multirésidus sont présentes dans certains sédiments à des niveaux susceptibles d'entraîner des réponses biologiques sensibles chez les gammares. La Figure 3 montre notamment qu'une concentration de cyperméthrine de l'ordre de $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS entraîne une mortalité voisine de 25% chez *G. pulex*.

En outre, la cyperméthrine est susceptible d'induire des réponses subléthales discrètes telles que des inhibitions de croissance ou diverses altérations métaboliques et fonctionnelles non létales (Palmquist *et al.*, 2011). Cold et Forbes (2004) ont par exemple montré qu'un bref pulse d'esfenvalérate provoquait une baisse de la fécondité et du comportement reproducteur chez *G. pulex* se traduisant *in fine* par un déficit de descendants. De tels pulses peuvent se produire *in natura* sans laisser de traces quantifiables dans les sédiments fluviaux. En effet, les sédiments et les matières en suspension présents dans un cours d'eau de montagne n'ont pas la même permanence temporelle que leurs analogues lacustres. Les sédiments fluviaux sont très souvent repris par les crues à l'issue de temps assez

courts. Les polluants présents dans ces matrices ont ainsi le potentiel d'induire des réponses toxiques importantes sans pour autant demeurer de manière pérenne ni pouvoir être quantifiés dans le milieu.

Il faut également remarquer, que même si les contenus en carbone organique des sédiments naturels et artificiels sont similaires, la composition chimique de la matière organique présente dans ces deux types de matrice peut s'avérer très différente. Cela peut engendrer des différences sensibles en matière d'adsorption de la cyperméthrine, de biodisponibilité et par conséquent de toxicité. Malheureusement, il n'existe pas de données à ce sujet pour les matières en suspension et les sédiments de la Loue.

Dans tous les cas, les résultats que nous avons obtenus au cours de ce travail montrent à l'évidence que les concentrations en cyperméthrine présente dans certains sédiments fluviaux sont du même ordre de grandeur que les seuils de toxicité aiguë mesurés lors des études *in vitro*.

Conclusions

Notre travail a permis d'établir pour la première fois un seuil de toxicité aiguë de la cyperméthrine associée au sédiment chez *G. pulex*. La toxicité de ce pyréthrianoïde s'exerce à des concentrations très basses (la LC_{50-10j} est de $17 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) qui sont inférieures aux seuils de détection des techniques analytiques usuellement mis en oeuvre dans les surveillances de routine.

L'ensemble des résultats que nous avons obtenus tant en milieu naturel qu'au laboratoire soulignent l'existence d'une toxicité marquée de la cyperméthrine chez une espèce autochtone, *G. pulex*, jouant un rôle majeur dans les équilibres trophiques au sein des rivières karstiques.

Ces résultats constituent une indication forte de l'existence d'un risque d'effets adverses pour de nombreuses autres espèces d'invertébrés aquatiques, qui peuvent également être la cible des différents autres contaminants détectés dans la rivière (insecticides et biocides tels que le chlorpyrifos ou d'autres pyréthrianoïdes, HAP, etc.).

Repères quantitatifs indicatifs

Sédiment

Concentration sédiment Loue (n=5) :	20 – 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS (LOQ _{multirésidus} = 20)
<i>G. pulex</i> LC _{50-10j}	17 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS
<i>G. pulex</i> LC _{50-10j}	0,90 $\mu\text{g g}^{-1}$ CO
<i>H. azteca</i> (Maund <i>et al.</i> , 2002) LC _{50-10j}	0,34 $\mu\text{g g}^{-1}$ CO

Eau

<i>G. pulex</i> LC _{50 - 96h} (Adam <i>et al.</i> 2009)	0,09 $\mu\text{g L}^{-1}$.
--	-----------------------------

Informations sur la cyperméthrine

Informations générales

numéro CAS : 52315-07-8

famille des pyréthrinoïdes (US : *pyrethroid*)

formule moléculaire brute : C₂₂H₁₉Cl₂NO₃,

formule développée

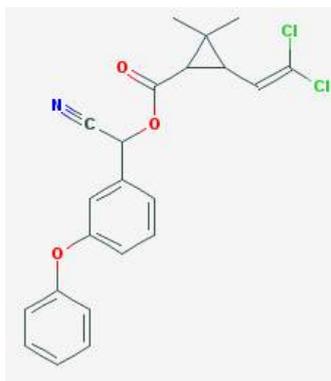


Figure 4. Formule du cyano(3-phénoxyphényl)méthyl-3-(2,2-dichloroéthényl)-2,2-diméthyl-cyclopropanecarboxylate ou cyperméthrine (d'après PubChem)

pyréthrinoïde, insecticide d'usage général : domestique, industriel, agricole, sylviculture, collectivités, transport, médicament vétérinaire (animaux de rente, animaux de compagnie, lutte anti-vectorielle)...

dérivé d'un insecticide naturel, la pyréthrine issue des boutons floraux de chrysanthème, plus de 1000 composés artificiels développés, utilisation régulière d'une dizaine d'entre eux

Toxicité pour la population générale

contamination humaine essentiellement par voie alimentaire, mais exposition possible par inhalation et voie cutanée (après épandage)

Niveau de risque minimal de la cyperméthrine (MRL) : 0,02 mg kg⁻¹ j⁻¹ toxicité aigüe par voie orale, exposition ≤ 14 j

Minimum Risk level (MRL, ATSDR, mars 2016)

Name Route Duration MRL Uncertainty Factors Endpoint Status cover date CAS Number
Cypermethrin Oral Acute 0.02 mg kg⁻¹d⁻¹ 1000 Neurol. Final 09/03 52315-07-8

Toxicocinétique

absorption par peau et poumons

40-60% de la dose orale est assimilée

molécule lipophile bioaccumulable dans les tissus adipeux

excrétion urinaire (biomarqueurs métabolites)

Niveaux environnementaux

air : pas de référence

sol : perméthrine 190 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS (48 sites de l'Illinois)

eau : perméthrine détection dans 24 échantillons sur 12253 (USA), 0,0137 $\mu\text{g L}^{-1}$)

Devenir dans l'environnement

facilement dégradé à l'air par la lumière solaire (quelques jours)

fortement adsorbé par les sols, lessivage faible mais entraîné si lixiviation

biodégradation dans les sols, hydrolyse alcaline

absorption faible par les végétaux

fortement bioaccumulé par certains organismes aquatiques.

Effets sur la santé

cible principale : système nerveux

exposition aiguë par inhalation ou par voie orale chez l'homme : étourdissements, maux de tête, des nausées, crampes, fatigue, convulsions et perte de conscience.

exposition chronique à des niveaux faibles : serait sans effet.

Mécanismes d'action

Les pyréthrine et les pyréthrinoïdes agissent principalement sur les canaux sodium des neurones. Deux types de pyréthrinoïdes sont distingués : type I sans groupement cyanure, type II avec groupement cyanure

type I syndrome de tremblement, mort

type II sursauts, mouvements saccadés, mort

Cancérogénicité

WHO IARC (CIRC)

Groupe 3: not classifiable as to its carcinogenicity to humans

US Cancer Assessment Review Committee for pyrethrins : augmentation des incidences des cancers de la thyroïde et du foie attribuée à usage des pyréthrinoïdes, classification "*likely to be a human carcinogen by the oral route*".

ETUDE DE LA TOXICITE DU BENZO(a)PYRENE ET D'AUTRES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES VIS A VIS D'UN AMPHIPODE AQUATIQUE *GAMMARUS PULEX* L.

Introduction

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des contaminants environnementaux très répandus. Ils sont majoritairement d'origine anthropique (Lienig et Neff, 1980)²⁰. En raison de leur faible solubilité aqueuse et de leur coefficient de partition (Kd) élevé, ils sont fortement adsorbés à la surface et dans la phase organique des particules. Le compartiment particulaire représente ainsi le contributeur majeur des HAP totaux dans les cours d'eau (Pham et Proulx, 1997 ; Manoli et Samara, 1999 ; Fatone *et al.*, 2011 ; Qi *et al.*, 2013)²¹. Ils sont présents sous la forme de mélanges complexes provenant de diverses sources : dépôt atmosphérique, circulation automobile, écoulement de produits pétroliers, ruissellement urbain, rejet domestique et industriel (Blanchard *et al.*, 2001 ; Yunker *et al.*, 2002 ; Brown et Peake, 2006)²². Leur potentiel toxique, mutagène et cancérigène (IARC, 1987)²³ est tel qu'ils ont été inclus dans les listes de polluants prioritaires de l'US EPA (1993)²⁴ et de l'Union Européenne (2005)²⁵. En raison de

²⁰ Lienig, D., & Neff, J. M. (1980). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. 30 fig., 89 tab., 262 pp. - London: Applied Science Publishers LTD 1979. Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie Hydrographie, 65, 898– 898. doi:10.1002/iroh.19800650624.

²¹ Pham, T.-T., & Proulx, S. (1997). PCBs and PAHs in the Montreal urban community (Quebec, Canada) wastewater treatment plant and in the effluent plume in the St Lawrence River. *Water Research*, 31, 1887–1896. doi:10.1016/S0043-1354(97)00025-0.

Manoli, E., & Samara, C. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 18, 417–428. doi:10.1016/S0165-9936(99)00111-9.

Fatone, F., Di Fabio, S., Bolzonella, D., & Cecchi, F. (2011). Fate of aromatic hydrocarbons in Italian municipal wastewater systems: an overview of wastewater treatment using conventional activated-sludge processes (CASP) and membrane bioreactors (MBRs). *Water Research*, 45, 93–104. doi:10.1016/j.watres.2010.08.011.

Qi, W., Liu, H., Pernet-Coudrier, B., & Qu, J. (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater, WWTPs effluents and in the recipient waters of Beijing, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 4254–4260. doi:10.1007/s11356-012-1435-6.

²² Blanchard, M., Teil, M.-J., Ollivon, D., et al. (2001). Origin and distribution of polyaromatic hydrocarbons and polychlorobiphenyls in urban effluents to wastewater treatment plants of the Paris area (FRANCE). *Water Research*, 35, 3679–3687. doi:10.1016/S0043-1354(01)00078-1.

Yunker, M. B., Macdonald, R. W., Vingarzan, R., et al. (2002). PAHs in the Fraser river basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, 33, 489–515. doi:10.1016/S0146-6380(02)00002-5.

Brown, J. N., & Peake, B. M. (2006). Sources of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban stormwater run-off. *Science of the Total Environment*, 359, 145–155. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.05.016.

²³ IARC (1987) Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. 1-42(7) International Agency for Research on Cancer, Lyon, France

²⁴ United States Environmental Protection Agency (1993) Provisional guidance for quantitative risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons. EPA-600-R93-089

leur toxicité, ils sont dangereux pour les organismes aquatiques et peuvent conduire à des modifications drastiques des écosystèmes (Bellas et Thor, 2007 ; Brinkmann *et al.*, 2013)²⁶. Les eaux usées domestiques et les effluents de stations d'épuration représentent une source importante de HAP dans les eaux de surface (Busetti *et al.*, 2006 ; Shi *et al.*, 2005 ; Gasperi, 2006)²⁷. Lors des épisodes de crue, le rejet d'eaux usées non traitées peut entraîner des contaminations marquées (Canobbio *et al.*, 2009)²⁸. Les concentrations en HAP dans les eaux usées brutes montrent des ordres grandeur variant du ng L⁻¹ au µg L⁻¹ et dépendent de la quantité d'effluents industriels arrivant dans les stations d'épuration (Manoli et Samara, 1999 ; Blanchard *et al.*, 2004).

Après leur entrée dans les systèmes aquatiques, le comportement et le devenir des HAP est fonction de leurs propriétés chimiques. La volatilisation, la dissolution, l'adsorption sur les particules solides, la sédimentation, les dégradations biotique et abiotique, l'absorption et l'accumulation par les organismes aquatiques sont les processus principaux auxquels sont soumis les HAP dans l'eau (Zhou *et al.*, 1999 ; Douben, 2003)²⁹.

En fonction de la voie d'exposition, de sa durée et de leurs propriétés chimiques, les HAP présentent des effets toxiques variables pour les organismes aquatiques. La toxicité aiguë du benzo(g,h,i)pérylène (BghiPL) en solution aqueuse chez *Daphnia magna*, a été évaluée à 0,2 µg L⁻¹ (Newsted et Giesy, 1987)³⁰. Degraeve *et al.* (1982)³¹ rapportent une valeur de 7,8 mg L⁻¹ pour le naphthalène (NAP) chez le poisson *Pimephales promelas*.

²⁵ European Union (2005) Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive: Environmental Quality Standards (EQS), sub-stance data sheet, Priority substance No.28: Polycyclic Aromatic Compounds

²⁶ Bellas, J., & Thor, P. (2007). Effects of selected PAHs on reproduction and survival of the Calanoid copepod *Acartia tonsa*. *Ecotoxicology*, 16, 465–474. doi:10.1007/s10646-007-0152-2.

Brinkmann, M., Hudjetz, S., Kammann, U., et al. (2013). How flood events affect rainbow trout: evidence of a biomarker cascade in rainbow trout after exposure to PAH contaminated sediment suspensions. *Aquatic Toxicology*, 128–129, 13–24. doi:10.1016/j.aquatox.2012.11.010.

²⁷ Busetti F, Heitz A, Cuomo M, Badoer S, Traverso P (2006) Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from an Italian wastewater treatment plant. *J Chromatogr* 1102(1–2):104–115

ShiZ, TaoS, PanB, FanW, HeXC, ZuoQ, WuSP, LiBG, CaoJ, Liu WX, Xu FL, Wang XJ, Shen WR, Wong PK (2005) Contamination of rivers in Tianjin, China by polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Pollut* 134(1):97–111

Gasperi J (2006) introduction and transfer of hydrocarbons at different spatial scales in the Parisian sewer system. PhD Thesis, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées 1–172

²⁸ Canobbio S, Mezzanotte V, Sanfilippo U, Benvenuto F (2009) Effect of multiple stressors on water quality and macroinvertebrate assemblages in an effluent-dominated stream. *Water Air Soil Poll* 198(1–4):359–371

²⁹ Zhou JL, Fileman TW, Evans S, Donkin P, Readman JW, Mantoura RFC, Rowland S (1999) The partition of fluoranthene and pyrene between suspended particles and dissolved phase in the Humber Estuary: a study of the controlling factors. *Sci Total Environ* 243–244:305–321

Douben PET (2003) PAHs: An ecotoxicological perspective. Unilever Colworth R&D, Safety and Environmental Assurance Centre, Sharnbrook, Bedford, UK

³⁰ Newsted JL, Giesy JP (1987) Predictive models for photoinduced acute toxicity of PAHs to *Daphnia magna*. *Environ Toxicol Chem* 6:445–461

³¹ Degraeve GM, Elder RG, Woods DC, Bergman HL (1982) Effects of naphthalene and benzene on fathead minnows and rainbow trout. *Arch Environ Con Tox* 11(4):487–490

En raison de leur faible solubilité aqueuse, la plupart des HAP présentent une grande affinité pour les matières en suspension et les sédiments. De la même manière que pour la phase aqueuse, la toxicité des HAP dans les sédiments est dépendante de la molécule. Verrhiest *et al.* (2001)³² rapportent une *No Observed Effect Concentration* (NOEC) chez *Hyalella azteca* de respectivement 3 et 300 $\mu\text{g g}^{-1}$ MS pour le phénanthrène (PHE) et le benzo(k)fluoranthène (BkFLT).

La directive cadre sur l'eau (2000/60/CE) propose des normes de qualité environnementale (*Environmental Quality Standards, EQS*) extrapolées à partir de données expérimentales. Ces EQS s'échelonnent de 2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour le naphthalène (NAP) à 0,002 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour l'indéno(1,2,3-cd)pyrène (IcdPYR) en phase aqueuse (EU, 2005 ; EU, 2008)³³. Cependant ces EQS concernent essentiellement des contaminations de la phase aqueuse par les HAP. Pour les sédiments, des concentrations prédites sans effet (PNEC) sont dérivées des PNEC pour les eaux de surface ou correspondent à des PNEC élaborés pour des sols. Ainsi, ces indicateurs ne sont pas pleinement appropriés pour évaluer la toxicité globale des HAP dans des matrices particulières (MES, sédiments).

Des lignes directrices sur la qualité des sédiments (*Sediment Quality Guidelines, SQG*) ont été élaborées pour les écosystèmes d'eau douce pour faciliter l'évaluation des risques écologiques. Sur la base des données de terrain et des données de laboratoire, des valeurs guides pour les HAP ont été proposées par différents auteurs (MacDonald *et al.*, 2000 ; Burton, 2002)³⁴. Ces auteurs utilisent (i) une *Threshold Effect Concentration* (TEC) qui est la concentration au dessus de laquelle des effets indésirables sont attendus, (ii) une *Probable Effect Concentration* (PEC), qui représente la concentration au-dessus de laquelle des effets nocifs peuvent être observés et (iii) le *Probable Effect Level* (PEL HA28) qui représente le niveau d'effet probable pour *Hyalella azteca* exposée pendant 28 jours (US EPA, 1996)³⁵. Pour utiles et intéressantes qu'ils soient, aucun de ces repères toxicologiques ne concerne une espèce européenne exposée par voie sédimentaire.

Or, le sédiment peut devenir une source secondaire de contamination pour les organismes aquatiques qui vivent à son contact, notamment pour les invertébrés benthiques en raison de leur habitat et de leur habitudes alimentaires (Archambault

³² Verrhiest G, Clément B, Blake G (2001) Single and combined effects of sediment-associated PAHs on three species of freshwater macroinvertebrates. *Ecotoxicology* 10(6):363–372

³³ European Union (2008) Directive n°2008/105/EC, on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176/EEC, 83/513/EEC, 84/156/EEC, 84/491/EEC, 86/280/EEC and amending Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council

³⁴ Macdonald DD, Ingersoll CG, Berger TA (2000) Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Arch Environ Contam Toxicol* 39(1):20–31
Burton GA (2002) Sediment quality criteria in use around the world. *Limnology* 3(2):65–76

³⁵ United States Environmental Protection Agency (1996) Calculation and evaluation of sediment effect concentrations for the amphipod *Hyalella azteca* and the midge *Chironomus riparius*. EPA 905-R96-008 Chicago

et al., 2010)³⁶. Les organismes benthiques peuvent ainsi être exposés, absorber et accumuler des HAP par ingestion et/ou par contact. Les HAP sont ensuite transférés aux organismes de niveau supérieur au sein du réseau trophique. Les gammarés, détritivores, prédateurs et proies, sont des taxons importants dans les communautés aquatiques (McNeil *et al.*, 1997)³⁷. Un déclin de leur population peut avoir des retentissements sur l'ensemble de l'édifice trophique. Ceci montre l'importance d'investiguer les matrices, que sont les sédiments et les matières en suspension, lorsqu'il s'agit d'évaluer la qualité chimique d'un cours d'eau (Patrolecco *et al.*, 2010)³⁸, ainsi que la toxicité des contaminants présents dans une rivière (Chiffre *et al.*, 2016).

Plusieurs études font état de modifications dans les communautés d'invertébrés aquatiques et notamment des peuplements de gammaridés à l'aval des rejets d'effluents de stations d'épuration (Kosmala *et al.*, 1999 ; Ladewig *et al.*, 2006)³⁹. Les gammaridés *Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum* jouent un rôle clé dans les cours d'eau en raison de leur abondance et de leur efficacité pour consommer la matière organique (Maltby *et al.*, 2002)⁴⁰. En outre les gammaridés sont connus pour être sensibles à de nombreux contaminants (De Lange *et al.*, 2006 ; Alonso *et al.*, 2010 ; Adam *et al.*, 2009)⁴¹ : ils sont notamment affectés par les HAP, les pesticides et les éléments traces métalliques. *Gammarus pulex* constitue donc un bon modèle biologique pour étudier l'écotoxicité des HAP présents dans les sédiments et les matières en suspension.

Nous avons montré précédemment l'existence d'une contamination chronique des MES et des sédiments du Doubs et de la Loue par les HAP (Chiffre *et al.* 2015 et 2016). Du fait du caractère hydrophobe de ces molécules, les organismes

³⁶ Archaimbault V, Usseglio-Polatera P, Garric J, Wasson JG, Babut M (2010) Assessing pollution of toxic sediment in streams using bio- ecological traits of benthic macroinvertebrates. *Freshw Biol* 55: 1430–1446

³⁷ McNeil C, Dick JTA, Elwood RW (1997) The trophic ecology of fresh- water Gammarus (Crustacea: Amphipoda): problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biol Rev* 72: 349–364

³⁸ Patrolecco L, Ademollo N, Capri S, Pagnotta R, Polesello S (2010) Occurrence of priority hazardous PAHs in water, suspended particulate matter, sediment and common eels (*Anguilla anguilla*) in the urban stretch of the River Tiber (Italy). *Chemosphere* 11:1386–1392

³⁹ Kosmala A, Charvet S, Roger MC, Faessel B (1999) Impact assessment of a wastewater treatment plant effluent using instream invertebrates and the *Ceriodaphnia dubia* chronic toxicity test. *Water Res* 33(1): 266–278

Ladewig V, Jungmann D, Köhler HR, Schirling M, Triebkorn R, Nagel R (2006) Population structure and dynamics of *Gammarus fossarum* (Amphipoda) upstream and downstream from effluents of sewage treatment plants. *Arch Environ Con Tox* 50(3):370–383

⁴⁰ Maltby L, Clayton SA, Wood RM, Mcloughlin N (2002) Evaluation of the *G. pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environ Toxicol Chem* 21(2):361–368

⁴¹ De Lange HJ, Sperber V, Peeters ETHM (2006) Avoidance of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated sediments by the freshwater invertebrates *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus*. *Environ Toxicol Chem* 25(2):452–457

Alonso Á, De Lange HJ, Peeters ETHM (2010) Contrasting sensitivities to toxicants of the freshwater amphipods *Gammarus pulex* and *G. fossarum*. *Ecotoxicology* 19(1):133–140

O. Adam, F. Degiorgi, G. Crini, P.M. Badot, (2009) altération des populations d'amphipodes *Gammarus pulex* (Linnaeus, 1758) et *Gammarus fossarum* (Koch, 1836) par les produits de traitement du bois : conséquences en terme de bioindication. *Rev. sci. Bourgogne-Nature* - 9/10-2009, 215-224

benthiques et épibenthiques sont particulièrement exposés à ces contaminants qui peuvent être présents seuls ou en mélange dans les MES et les sédiments.

Dans le présent travail, nous avons choisi d'étudier les effets du benzo(a)pyrène (BaPYR) sur la survie des gammares en considérant qu'il s'agit d'un indicateur des réponses à l'exposition aux composés de la famille des HAP. Il n'existe pas à l'heure actuelle de données quantitatives relatives à la toxicité du benzo(a)pyrène présent dans les sédiments et les matières en suspension chez les gammaridés, alors que les contaminations par les HAP sont fréquentes dans ces compartiments dans de nombreux écosystèmes aquatiques d'eau douce en Europe. Le gammare a été utilisé car il est considéré comme beaucoup plus représentatif des espèces d'invertébrés européens que les espèces américaines souvent utilisées dans les études écotoxicologiques concernant les HAP. La gamme de concentrations utilisées pour contaminer les sédiments artificiels a été choisie en fonction des données de la littérature et des concentrations mesurées dans les sédiments naturels et les matières en suspension.

Indépendamment des mortalités qu'elle a présentées, la Loue constitue une rivière représentative des rivières karstiques du massif jurassien. En outre sa renommée en termes de potentiel halieutique rend son choix encore plus pertinent.

L'objectif de cette partie du travail est d'évaluer la toxicité aigüe pour Gammarus pulex L. de sédiments artificiellement contaminés par le benzo(a)pyrène à des concentrations environnementalement réalistes et de discuter l'impact possible de la contamination des sédiments de la Loue par les HAP au vu des repères toxicologiques obtenus.

Matériel et méthodes

Les sédiments artificiels ont été préparés selon le même protocole que celui décrit précédemment pour les expositions à la cyperméthine.

Contamination du sédiment artificiel

Les sédiments ont été contaminés par le B(a)PYR à des concentrations égales à 0, 5, 20, 40 and 100 mg kg⁻¹ MS, à partir d'une solution mère obtenue par dilution de 100 mg de B(a)PYR (Sigma Aldrich) dans 100 mL d'acétone (Sigma Aldrich). Dans chaque bécher, 10 mL de solution mère convenablement diluée ont ensuite été mélangés à 100 g de sédiment artificiel pour obtenir la concentration désirée.

Analyse des sédiments artificiels

A l'issue de l'expérience, tous les réplicats de sédiments sont lyophilisés et conservés à l'obscurité à température ambiante. Les solutions aqueuses sont stockés à -20°C jusqu'à analyse. Pour les analyses, le benzo(a)pyrène (BaP) utilisé pour la calibration provient de Supelco Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France) and Interchim (Montluçon, France). Le n-hexane distol, et les autres produits nécessaires aux analyses ont été fournis par Fisher Scientific (Illkirch, France).

L'extraction des HAP a été réalisée selon le protocole décrit par Morin-Crini *et al.* (2014)⁴². Les HAP sont extraits du sédiment à l'aide de n-hexane à l'aide d'une extraction liquide sous pression (SpeedExtractor E-914 system de Büchi, Rungis, France). Les extraits sont ensuite analysés à l'aide d'un analyseur GC-MS/MS (Agilent, Massy, France) qui inclut un 7890A GC system, un spectromètre de masse 7000 GC à triple quadrupole et un échantillonneur 80 GC Combipal équipé d'une colonne (5 % phényl)-méthylpolysiloxane HP5MS (30 m x 0,25 mm i.d, 0,25 µm, Agilent 19091J-433). Les méthodes d'extraction et de détection ont été validées pour chaque échantillon par référence à leur linéarité, leurs limites de détection ou de quantification (LOD or LOQ), leur précision (*relative standard deviation*) et leur exactitude (Morin-Crini *et al.*, 2014 ; Morin-Crini *et al.*, 2015)⁴³. Des contrôles de qualité sont effectués tous les 10 échantillons. Les gammes de valeurs obtenues sont comprises entre 93 et 107 % (MES et sédiments) et entre 92 et 102 % (solutions aqueuses) des valeurs attendues. Lorsque les contrôles de qualité ne sont

⁴² Morin-Crini, N., Druart, C., & Amiot, C., et al. (2014). Towards a convenient procedure to characterize polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments receiving industrial effluents. *Pollution Effects and Control* 3–1.

⁴³ Morin-Crini, N., Druart, C., Amiot, C., et al. (2015). Discharge waters: determination of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) levels by a GC-MS/MS method. *Environmental Engineering and Management Journal*, 14, 1195–1202.

pas satisfaisants, la calibration est effectuée à nouveau et les échantillons concernés sont analysés une seconde fois. Pour estimer les pourcentages de recouvrement, des échantillons sont contaminés à différentes concentrations de HAP à l'aide d'une solution standard (ampoule d'un mélange de HAP à $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$, EPA 610, Restek, Lisses, France).

Résultats et discussion

HAP dans les matières en suspension et les sédiments naturels

Campagne hiver 2013 - printemps 2014

La campagne de prélèvement de l'hiver 2013-2014 a été réalisée selon le protocole décrit dans Chiffre *et al.*, 2015.

Les sites de prélèvement sont décrits dans la Figure 5.

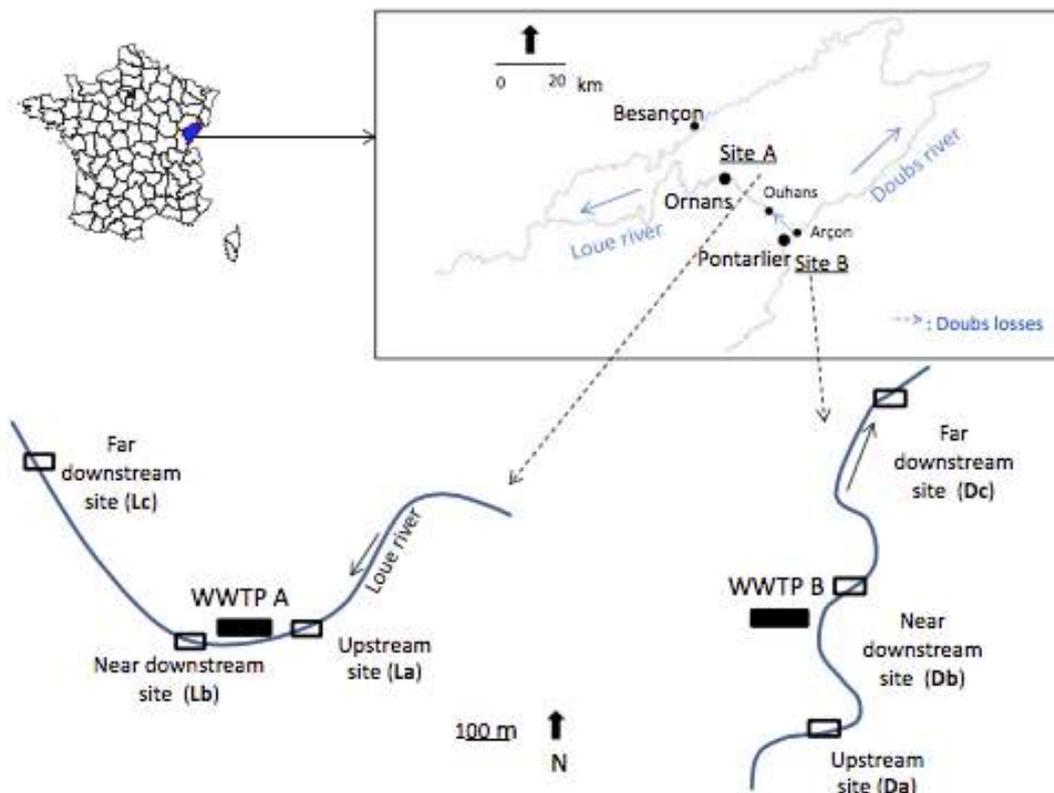


Figure 5. Localisation des sites d'échantillonnage

Les résultats sont rapportés dans le Tableau 5.

Tableau 5. Concentrations en HAP dans des matières en suspension (SPM) et des sédiments collectés à l'amont et à l'aval des stations d'épuration d'Ornans (La = amont, Lb = aval proche, Lc = aval lointain) et de Pontarlier (Da = amont, Db = aval proche, Dc = aval lointain). 3 à 6 réplicats sont échantillonnés par site.

	NAP	ACY	ACE	FLU	PHE	ANT	FLT	PYR	BaANT	CHY	BbFLT	BkFLT	BaPYR	IcdPYR	dBahANT	BghiPL	Σ_{16} PAHs
SQG (ng g⁻¹)																	
TEC	176			77.4	204	57.2	423	195	108	166	1290		150		33		1610
PEC	561			536	1170	845	2230	1520	1050	1290			1450				22800
EQS	2400					100	100					30	50	2		2	
SPM																	
La	< LQ	10.2	10.0	10.1	54.1	13.0	116.6	89.6	66.1	134.1	69.0	41.3	43.6	29.7	12.0	33.0	749.6
Lb	< LQ	11.9	8.8	12.3	92.0	33.4	262.1	161.7	142.7	259.4	111.0	64.4	68.2	40.1	17.3	42.3	1344.8
Lc	< LQ	11.0	9.0	11.6	94.8	23.0	263.2	175.1	105.2	193.3	102.8	61.3	67.8	48.8	20.5	53.6	1258.1
Da	< LQ	14.8	15.7	26.7	173.4	40.2	489.3	294.9	180.9	270.1	207.0	155.6	139.6	120.2	50.2	157.8	2353.7
Db	< LQ	16.2	31.5	37.7	184.2	39.7	478.2	263.8	198.4	305.2	216.6	170.5	141.5	92.0	33.7	109.8	2356.1
Dc	< LQ	17.7	14.8	21.4	159.3	38.8	497.5	294.3	234.2	355.5	250.4	177.0	155.2	95.9	10.9	123.1	2463.0
Sédiment																	
La	< LQ	10.8	6.5	7.7	71.7	17.7	205.5	137.9	105.4	199.1	82.8	53.8	54.8	34.9	14.2	36.5	1056.4
Lb	< LQ	14.6	8.3	10.1	97.3	23.7	324.9	211.2	197.2	366.4	191.4	113.1	113.4	69.2	31.0	79.9	1868.8
Lc	< LQ	10.3	5.2	5.3	40.5	12.5	124.5	88.5	63.7	126.0	58.9	34.8	38.4	26.4	10.5	28.1	690.7
Da	< LQ	15.3	11.5	19.1	177.0	37.9	537.2	314.6	183.0	276.5	209.3	163.2	154.0	161.4	60.9	249.5	2587.7
Db	< LQ	15.7	10.3	14.4	122.9	39.8	408.6	240.9	159.2	232.6	173.3	129.8	124.7	112.2	43.5	157.4	2002.6
Dc	< LQ	23.3	21.5	32.0	255.5	77.0	600.0	458.7	278.2	398.9	318.0	230.2	224.8	182.0	69.9	247.3	3625.6
LQ (µg kg⁻¹)	31.3	1.8	3.3	2.7	14.9	2.8	7.6	5.2	0.7	2.6	2.0	2.6	0.8	1.1	0.2	1.1	

En ce qui concerne le benzo(a)pyrène (BaPYR), objet des présentes investigations écotoxicologiques, ses concentrations sont respectivement de l'ordre de 40 à 65 ng g⁻¹ et de 140 à 155 ng g⁻¹ dans les MES de la Loue et du Doubs. En ce qui concerne les sédiments, les concentrations mesurées varient de 40 à 115 ng g⁻¹ dans la Loue et de 125 à 225 ng g⁻¹ dans le Doubs. Ces teneurs en BAP dépassent donc fréquemment les normes réglementaires de qualité définies par l'Union européenne. En règle générale, elles sont inférieures aux TEC et *a fortiori* aux PEC proposées par MacDonald *et al.* (2000).

Les concentrations totales des 16 HAP de l'US EPA (Σ_{16} PAHs) varient entre 749 et 1344,8 ng g⁻¹ MS dans les MES et entre 690,7 et 1868,8 ng g⁻¹ MS dans les sédiments.

Campagnes 2014 et 2015 dans la Loue

Au cours de l'année 2014, plusieurs autres campagnes d'échantillonnage ont été réalisées dans la Loue pour prélever des MES et des sédiments. Les concentrations totales des 16 HAP de l'US EPA (Σ_{16} PAHs) varient entre 675 et 3709 ng g⁻¹ MS dans les MES et entre 668 et 7712 ng g⁻¹ MS dans les sédiments.

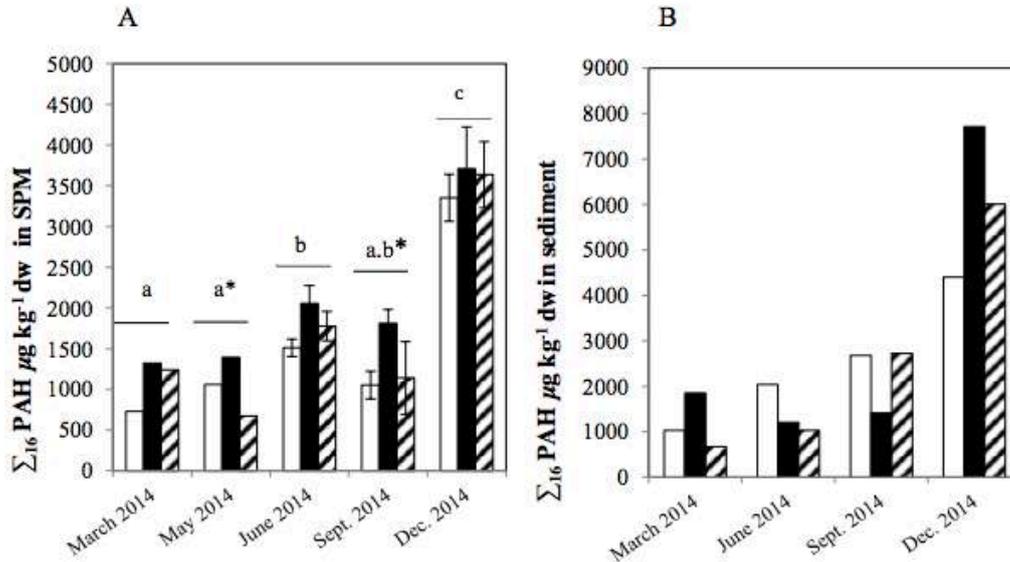


Figure 6. Concentrations en HAP en $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS dans les MES (SPM, A) et dans les sédiments (B) à l'amont (blanc), à l'aval proche (noir) et à l'aval lointain (hachuré) de mars à décembre 2014. Pour les MES prélevées en juin, septembre et décembre, les valeurs de concentrations sont des moyennes associées à leurs écart-types. Les différences significatives (Anova à mesures répétées, $p < 0,05$) de concentrations moyennes en HAP selon les différentes campagnes d'échantillonnage sont signalées par des lettres différentes. Les différences significatives d'un site à l'autre au cours d'une même campagne sont indiquées par un astérisque * (Chiffre *et al.*, 2016).

Les concentrations en HAP dans les MES et les sédiments de la Loue sont du même ordre de grandeur que celles des échantillons prélevés en aval de grandes agglomérations (ordre de grandeur du ng au $\mu\text{g kg}^{-1}$) alors que le bassin versant de la Loue n'est pas densément peuplé.

En ce qui concerne le B(a)Pyr, l'ensemble des mesures réalisées entre mars 2014 et mai 2015 ($n = 102$ échantillons) montre une contamination moyenne égale à $210,33 (146,71) \mu\text{g kg}^{-1}$ MS. Les teneurs minimale et maximale en B(a)Pyr mesurées au cours de cette période dans les MES et sédiments de la Loue sont respectivement de $38,4$ et $828,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS.

Campagnes 2014 et 2015 dans le Doubs

En 2014, les concentrations moyennes en HAP totaux dans le Doubs varient de 2160 à $7238 \mu\text{g g}^{-1}$ dans les MES et de 1863 à $14007 \mu\text{g g}^{-1}$ dans les sédiments (Figure 7). Les concentrations en HAP dans les MES en amont et en aval proche de la STEP ne sont pas statistiquement différentes. Néanmoins en juin, septembre et décembre, les concentrations en HAP dans les MES sont plus élevées en aval

proche par rapport à l'amont. Dans les sédiments, les concentrations en HAP à l'amont de la STEP sont systématiquement plus élevées par rapport aux stations aval. Dans les MES et les sédiments, les concentrations en HAP les plus élevées ont été mesurées en décembre 2014.

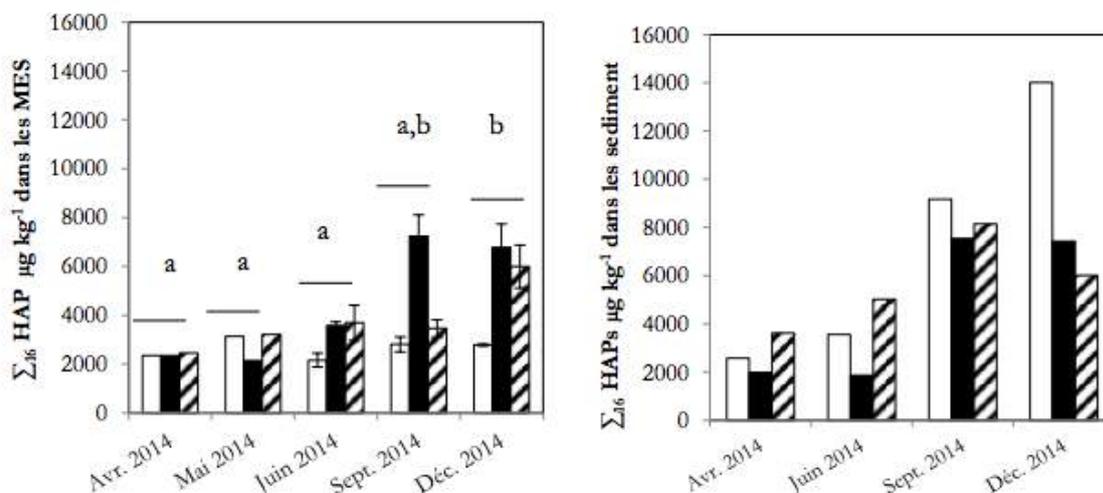


Figure 7. Concentrations en HAP dans les MES et dans les sédiments du Doubs au cours des différentes campagnes d'échantillonnage en amont (blanc), en aval proche (noir) et en aval lointain (hachures). Les concentrations en HAP dans les MES en juin (n=5), septembre (n=5) et décembre (n=4) sont représentées par la moyenne pour chaque station et les écart-types. Les différences significatives (Anova à mesures répétées, $p < 0,05$) de concentrations moyennes en HAP selon les différentes campagnes d'échantillonnages sont représentées par des lettres.

En ce qui concerne le B(a)PYR, l'ensemble des mesures réalisées entre mars 2014 et mai 2015 (n = 80 échantillons) montre une contamination moyenne égale à 464,6 (477,77) $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS.

Les teneurs minimale et maximale en B(a)PYR mesurées au cours de cette période dans les MES et sédiments du Doubs sont respectivement de 46,9 et 2513,7 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS.

Teneurs en B(a)PYR dans le sédiment artificiel et la phase aqueuse à l'issue des 10 jours d'exposition des gammars

Les concentrations en B(a)PYR dans le sédiment s'échelonnent entre 1,3, et 66,7 mg kg⁻¹ MS (Tableau 6) et de 0,25 à 14,05 µg L⁻¹ (Tableau 7) dans la solution aqueuse. Les concentrations plus faibles en B(a)PYR dans le sédiment à l'issue de l'expérience peuvent être expliquées par une efficacité partielle de la procédure de *spiking*, par une adsorption sur les parois des béchers, par la biodégradation et/ou l'absorption par *G. pulex*.

Tableau 6. Concentrations nominales et concentrations finales mesurées en B(a)PYR dans les sédiments artificiels à l'issue des expériences. Les concentrations en B(a)PYR (n=3) sont exprimées sous forme de moyennes et d'écart-types.

Sédiment artificiel	Sédiment artificiel
Concentration nominale (mg kg ⁻¹ MS)	Concentration finale mesurée (mg kg ⁻¹ MS)
5	1,26 (0,13)
20	8,11 (1,82)
40	16,10 (1,98)
100	66,67 (1,16)

Tableau 7. Concentrations nominales et concentrations finales mesurées en B(a)PYR dans les solutions aqueuses à l'issue des expériences. Les concentrations en B(a)PYR (n=3) sont exprimées sous forme de moyennes et d'écart-types.

Sédiment	Solutions aqueuses
Concentration nominale (mg kg ⁻¹ MS)	Concentration finale mesurée (µg L ⁻¹)
5	0,25 (0,05)
10	0,83 (0,11)
40	6,27 (1,55)
100	14,05 (5,67)

Toxicité du B(a)PYR présent dans les sédiments

Les taux de survie des gammares sont supérieurs à 80 % à l'issue de l'expérience dans les témoins eau et solvant, ce qui valide les résultats des tests réalisés.

Pour les expériences, deux catégories d'individus ont été utilisés : des juvéniles dont la taille est inférieure à 3 mm et des individus adultes de longueur supérieure à 6 mm.

La mortalité observée chez *Gammarus pulex* exposé au benzo(a)pyrène augmente avec la concentration tant chez les adultes que chez les juvéniles (Figures 8, 9 et 10).

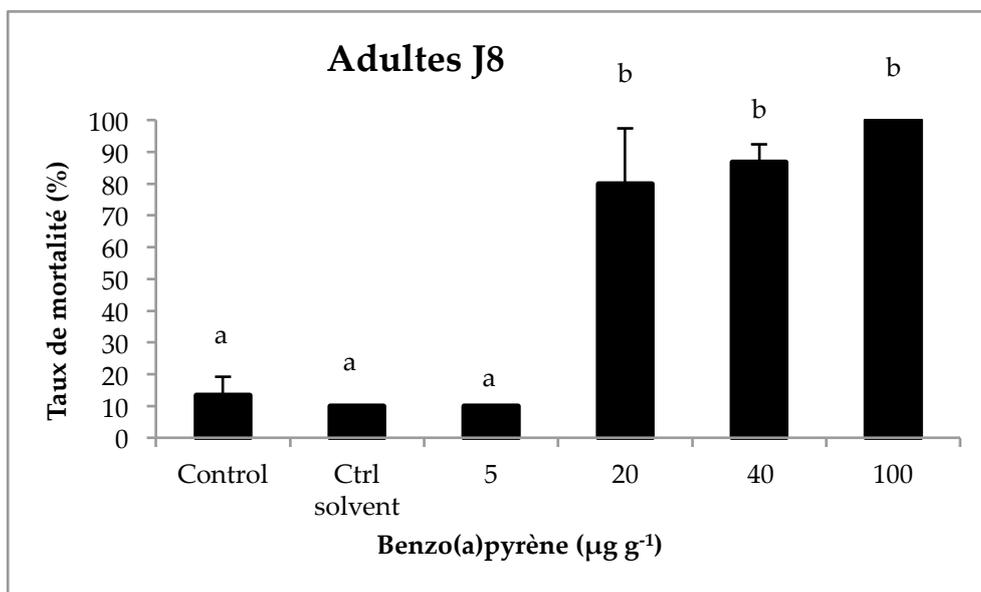


Figure 8. Pourcentages de mortalité (%) observés chez *G. pulex* exposé (individus adultes) pendant 8 jours à différentes concentrations de benzo(a)pyrène. Les valeurs indiquées correspondent aux concentrations nominales dans le sédiment artificiel au début de l'expérience. Les pourcentages de mortalité correspondent aux moyennes et écart-types de 6 réplicats.

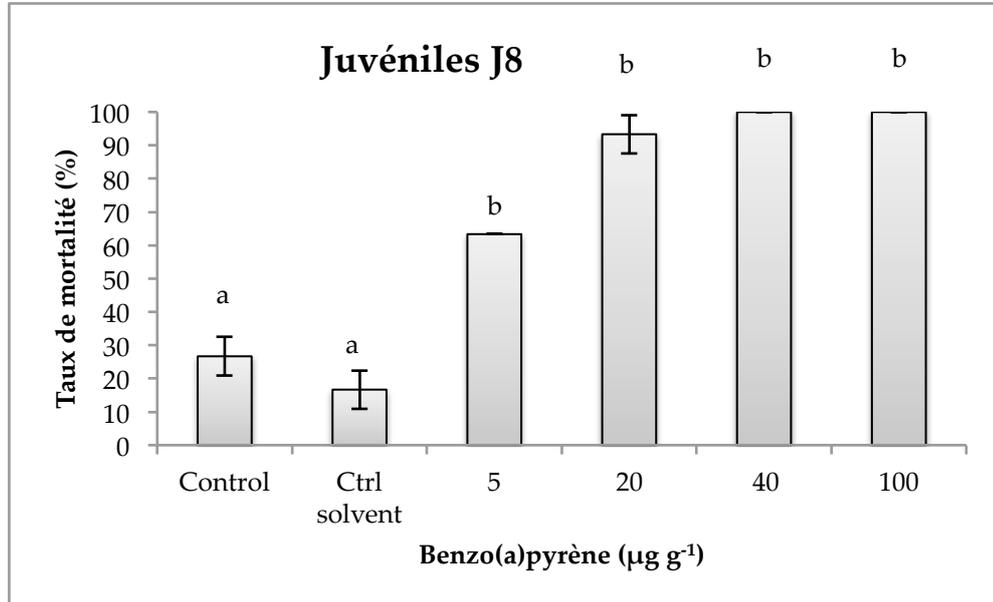


Figure 9. Pourcentages de mortalité (%) observés chez *G. pulex* (individus juvéniles) exposé pendant 8 jours à différentes concentrations de benzo(a)pyrène. Les valeurs indiquées correspondent aux concentrations nominales dans le sédiment artificiel au début de l'expérience. Les pourcentages de mortalité correspondent aux moyennes et écart-types de 6 réplicats.

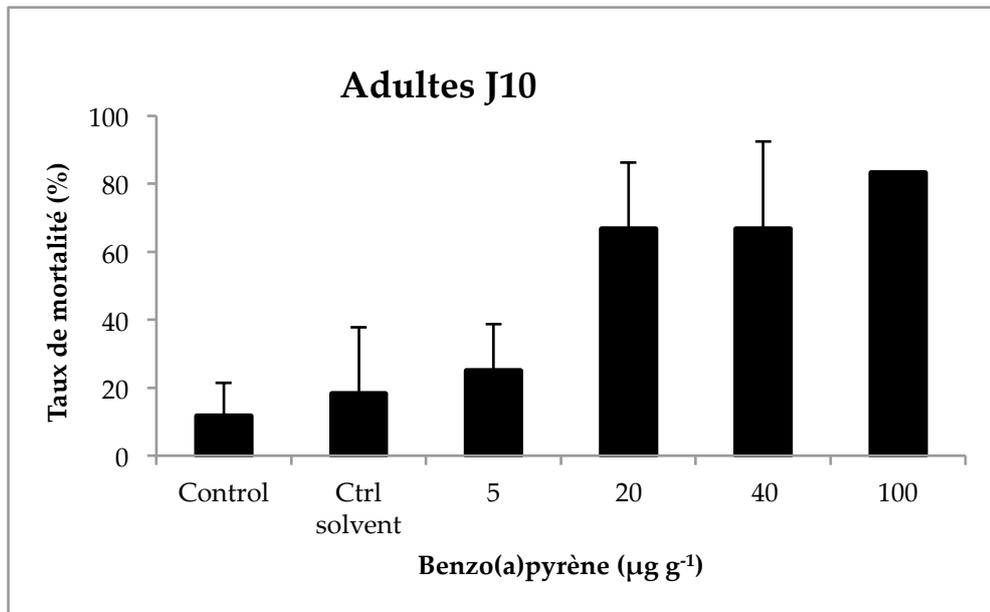


Figure 10. Pourcentages de mortalité (%) observés chez *G. pulex* (individus adultes) exposé pendant 10 jours à différentes concentrations de benzo(a)pyrène. Les valeurs indiquées correspondent aux concentrations nominales dans le sédiment artificiel au début de l'expérience. Les pourcentages de mortalité correspondent aux moyennes et écart-types de 6 réplicats.

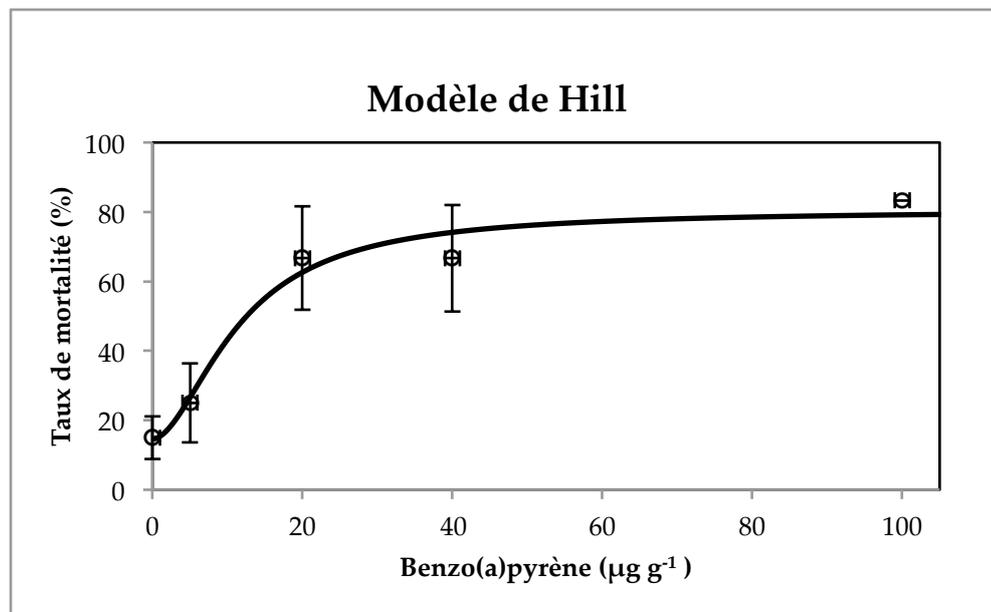


Figure 11. Courbes concentration-réponse obtenues à l'aide du modèle de Hill chez *G. pulex* exposé au benzo(a)pyrène en fonction de la concentration nominale mesurée dans le sédiment artificiel. Les pourcentages de mortalité correspondent aux moyennes et écart-types de 6 réplicats.

La concentration de benzo(a)pyrène qui provoque la mort de 50% des gammarès (LC_{50-10j}) est égale à $11 \mu\text{g g}^{-1}$ MS, concentration exprimée par rapport à la concentration nominale (Figures 10 et 11, Tableau 8). Exprimée par rapport au carbone organique présent dans le sédiment, cette LC_{50-10j} vaut $660 \mu\text{g g}^{-1}$ OC.

Les informations relatives à la toxicité du benzo(a)pyrène vis à vis des gammaridés en phase aqueuse ou dans le sédiment sont rares. Lawrence et Poulter (1998)⁴⁴ rapportent une LC_{50} de $371 \mu\text{g L}^{-1}$ chez *G. duebeni* après 24 H d'exposition. Une autre étude indique une 96 h LC_{50} de $58 \mu\text{g L}^{-1}$ chez le copépode *Eurytemora affinis nauplii* (Forget-Leray et al., 2005)⁴⁵. Dans notre travail, la concentration en B(a)PYR mesurée dans la phase aqueuse après 10 jours d'exposition s'échelonne entre 0,25 et $14,05 \mu\text{g L}^{-1}$. Ces valeurs sont nettement inférieures aux deux LC_{50} disponibles

⁴⁴ J. Lawrence, A; Poulter, C. 1998 Development of a sub-lethal pollution bioassay using the estuarine amphipod *Gammarus duebeni*. *Water Research* 1998 32(3):569-578 DOI: 10.1016/S0043-1354(97)00306-0

⁴⁵ J. Forget-Leray, I. Landriau, C. Minier, F. Leboulenger 2005, Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* (Poppe), *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60 (2005) 288–294

dans la littérature, ce qui suggère que ce n'est pas le B(a)PYR présent dans la phase aqueuse qui rend compte des mortalités enregistrées et que la toxicité vis à vis de *G. pulex* mise en évidence dans notre travail est liée au benzo(a)pyrène présent dans la phase particulaire.

Tableau 8. Valeurs de LC₅₀ du benzo(a)pyrène exprimées par rapport à la concentration nominale et par rapport à la quantité de carbone organique présent dans le sédiment artificiel (17,4 g CO kg⁻¹ MS). Les valeurs correspondant à la moyenne des mesures effectuées dans 5 réplicats.

Sédiment	B(a)PYR
LC ₅₀ µg g ⁻¹ MS	11,50
LC ₅₀ µg g ⁻¹ OC	660

Quelques informations existent concernant la toxicité du B(a)PYR en phase particulaire : Wirth *et al.* (1998)⁴⁶ rapportent que la survie du copépode *Amphiascus tenuiremis* n'est affectée qu'à partir d'une concentration de 12,1 µg g⁻¹ MS. Du *et al.* (2014)⁴⁷ indiquent une toxicité chronique du B(a)PYR chez *Chironomus dilutus* avec une LC₅₀ de 92 ± 19,6 et 56,9 ± 1,76 µg g⁻¹ OC après 20 et 43 jours. La LC₅₀ trouvée dans le présent travail est environ 10 fois plus élevée que celle rapportée par Du *et al.* (2014). La toxicité plus élevée chez le chironome est sans doute liée à des temps d'exposition plus longs, mais peut aussi traduire une plus forte sensibilité.

Verrhiest *et al.* (2001) rapportent des valeurs de LC₅₀ de 10, 5 and 15 mg kg⁻¹ MS de fluoranthène respectivement chez *Daphnia magna*, *Hyalella azteca* et *Chironomus riparius*.

En outre, le B(a)PYR est connu pour provoquer des effets subléthaux à des concentrations plus faibles. Lawrence et Poulter (1998) ont par exemple montré que

⁴⁶ E. F. Wirth, M. H. Fulton, G. T. Chandler, P. B. Key, G. I. Scott. 1998. Toxicity of Sediment Associated PAHs to the Estuarine Crustaceans, *Palaemonetes pugio* and *Amphiascus tenuiremis*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (1998) 61:637-644

⁴⁷ Juan Du, Yanliang Li, Z. Charlie Huang, Jing You, 2014. Chronic Toxicity Thresholds for Sediment-Associated Benzo[a]pyrene in the Midge (*Chironomus dilutus*) *Arch Environ Contam Toxicol* (2014) 66:370–378
DOI 10.1007/s00244-014-0005-y

les capacités natatoires de *Gammarus duebeni* sont altérées pour des concentrations nominales de $12 \mu\text{g L}^{-1}$.

Lesueur *et al.* (2013)⁴⁸ rapportent que le B(a)PYR provoque une inhibition significative de la croissance larvaire chez *E. affinis*. De la même manière, Bang *et al.* (2009)⁴⁹ signalent une inhibition larvaire chez le copépode *T. japonicus* exposé à $1 \mu\text{g L}^{-1}$ de B(a)PYR.

Si l'on compare les résultats que nous avons obtenus lors des tests écotoxicologiques ($\text{LC}_{50} = 11000 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) avec les concentrations moyennes en B(a)PYR ($210 \pm 146 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$ dans la Loue et $464 \pm 477 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$ dans le Doubs), on constate que le benzo(a)pyrène n'atteint pas le plus souvent des concentrations suffisantes dans les sédiments et les MES pour provoquer à lui seul des mortalités significatives chez les populations de gammares des deux cours d'eau.

Si l'on compare cette LC_{50} ($11000 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) avec les concentrations maximales trouvées dans les deux rivières ($828,8 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$ dans la Loue et $2513,7 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$ dans le Doubs), on constate cette fois-ci que les ordres de grandeur sont voisins, indiquant que ponctuellement des effets létaux significatifs pourraient se produire. Cependant, aux concentrations usuellement mesurées dans la rivière, le benzo(a)pyrène ne peut à lui seul induire des mortalités significatives chez *G. pulex*.

Si l'on compare maintenant les concentrations moyennes mesurées dans la Loue ($210 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) et le Doubs ($464 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) aux valeurs guide ($\text{TEC}_{\text{B(a)PYR}} = 150 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$ et $\text{PEL}_{\text{B(a)PYR}} = 1450 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) proposées par MacDonald *et al.*, (2000) ou à la norme de qualité environnementale ($\text{EQS}_{\text{B(a)PYR}} = 50 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) de l'Union européenne pour le benzo(a)pyrène, on constate alors que le seuil de concentration d'effet ($\text{TEC}_{\text{B(a)PYR}}$) et la norme européenne sont dépassés. Trois prélèvements effectués dans le Doubs, (maximum = $2513,7 \text{ ng g}^{-1} \text{ MS}$) excèdent la concentration probable d'effet ($\text{PEC}_{\text{B(a)PYR}}$).

Cependant, dans la très grande majorité des cas, le benzo(a)pyrène n'atteint pas des concentrations suffisantes dans les sédiments ou les MES pour provoquer des mortalités significatives chez les populations de gammares des deux cours d'eau.

⁴⁸ T. Lesueur, C Boulangé-Lecomte, G. Restoux, J. Deloffre, B. Xuereb, K. Le Menach, H. Budzinski, N. Petrucciani, S. Marie, F. Petit, J. Forget-Leray. 2015. Toxicity of sediment-bound pollutants in the Seine estuary, France, using a *Eurytemora affinis* larval bioassay, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113,169–175

⁴⁹ Bang, Hyun Woo; Lee, Wonchoel; Kwak, Inn-Sil, 2009. Detecting points as developmental delay based on the life-history development and urosome deformity of the harpacticoid copepod, *Tigriopus japonicus sensu lato*, following exposure to benzo(a)pyrene *Chemosphere* 76(10):1435-1439 DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.06.002

HAP totaux

Nos résultats montrent qu'il existe de très grandes similitudes dans les profils moléculaires et les variations des concentrations en HAP entre toutes les stations et les campagnes d'échantillonnage. Ceci suggère qu'il s'agit d'une contamination opérant à l'échelle du bassin versant.

Par ailleurs, nos résultats montrent une augmentation des concentrations en HAP dans les MES et les sédiments en période hivernale. Ceci semble liée à la baisse de la température qui induit une augmentation de l'adsorption des HAP sur la phase particulaire (Odabasi *et al.*, 1999 ; Wu *et al.*, 2005)⁵⁰ tout en favorisant leur transfert vers le bassin versant en limitant leur dispersion atmosphérique (Vrana *et al.*, 2014)⁵¹. Les conditions météorologiques hivernales associées à l'augmentation de la combustion de biomasse liée au chauffage, créent ainsi des situations propices au transfert de HAP de l'atmosphère vers les sols et les cours d'eau. Nos résultats sont en accord avec différents travaux montrant que la majorité des HAP retrouvés dans les STEP proviennent des eaux de ruissellement, qui provoquent les lessivages des dépôts atmosphériques, des bitumes et enrobés, des particules résultant de l'abrasion des pneus ainsi que des émissions automobiles (Gasperi, 2006 ; Brown et Peake, 2006 ; Yang *et al.*, 2010).

En comparant avec les données de la littérature, nous avons montré que les signatures moléculaires de nos échantillons étaient proches de celles de particules associées aux activités humaines notamment le goudron de houille ou les charbons bitumineux (Figure 12, Chiffre *et al.*, 2015 et 2016).

La dégradation et l'érosion du réseau routier constitue une source potentielle de HAP dans les milieux aquatiques. Les conditions hivernales dans le bassin versant particulièrement marquées par de longues périodes de gel et d'enneigement peuvent conduire à une dégradation notoire de la chaussée par des phénomènes de gonflement par le gel d'enrobés bitumineux (Mauduit *et al.*, 2013)⁵². Selon leur localisation, les chaussées sont généralement composées de divers empilements de couches de différents matériaux (sable silico-calcaire, sable ciment, grave-bitume, béton bitumineux, ...) nécessitant l'apport de liants bitumineux ou autres. Les goudrons ont été utilisés pendant plusieurs décennies en mélange avec du bitume

⁵⁰ Odabasi M, Vardar N, Sofuoglu A, et al (1999) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Chicago air. *Sci Total Environ* 227:57–67. doi: 10.1016/S0048-9697(99)00004-2

Wu, Shui-Ping; Tao, Shu; Zhang, Zhi-Huan; Lan, Tian; Zuo, Qian, 2005. Distribution of particle-phase hydrocarbons, PAHs and OCPs in Tianjin, China. *Atmospheric Environment* 2005 39(38):7420-7432 DOI: 10.1016/j.atmosenv.2005.08.031

⁵¹ Vrana B, Klucárová V, Benická E, et al (2014) Passive sampling: An effective method for monitoring seasonal and spatial variability of dissolved hydrophobic organic contaminants and metals in the Danube river. *Environ Pollut* 184:101–112. doi: 10.1016/j.envpol.2013.08.018

⁵² Valéry Mauduit, Caroline Mauduit, Nelly Vulcano Greullet, Nathalie Coulon, Ferhat Hammoum, 2013. Dégradation subite des enrobés bitumineux par période de gel/dégel : Analyse de cas de terrain et recherche exploratoire en laboratoire. *Bulletin des Laboratoires des Ponts et Chaussées*, 2013, pp 47-63.

dans les revêtements routiers. Les goudrons, au contraire du bitume, contiennent des quantités importantes de HAP (20 à 50%). Les concentrations en HAP mesurées dans des échantillons de déchets routiers sont très variables et peuvent aller de 0,12 mg kg⁻¹ dans du béton bitumeux issu d'un parking de grande surface à 8124 mg kg⁻¹ dans un liant de chemin forestier (Brazillet *et al.*, 2001)⁵³.

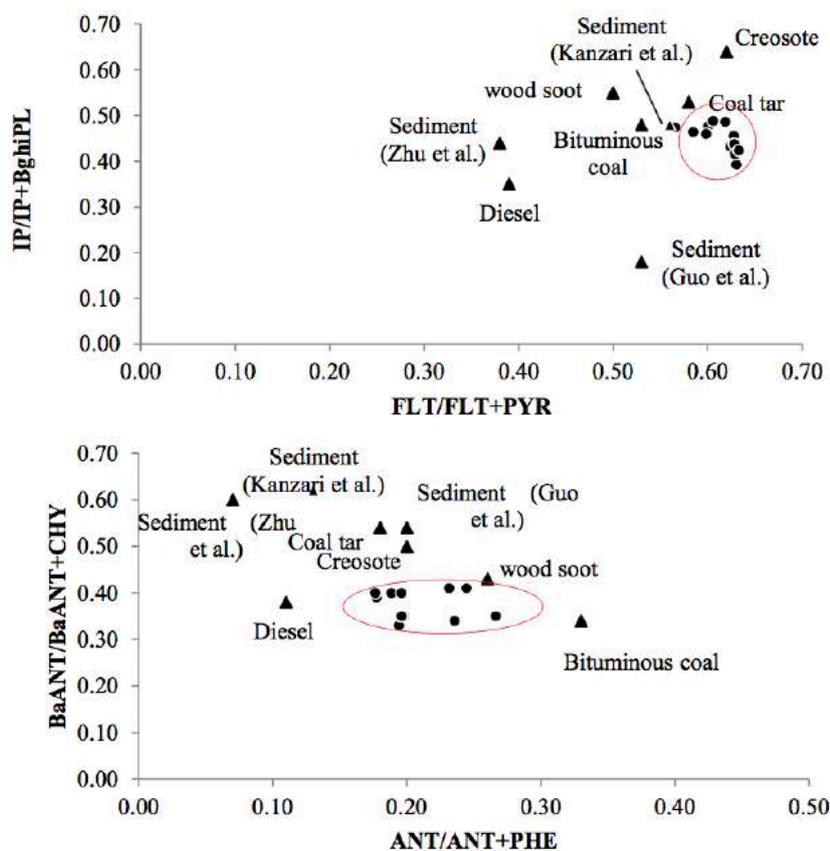


Figure 12. Comparaison entre les ratio FLT/ FLT+PYR versus IP/IP+BghiPL et ANT/ANT+PHE versus BaANT/BaANT+CHY. • Données LCE ▲ Données de la littérature (Kanzari *et al.*, 2014 ; Zhou *et al.*, 1999 ; Guo *et al.*, 2007 ; Yunker *et al.*, 1996)

Bien moins utilisés aujourd'hui pour la construction des routes, les goudrons sont toutefois toujours employés dans la formulation d'enrobés spéciaux (parkings, piste d'aéroports, ...) pour leurs qualités de résistance aux solvants pétroliers. Bien qu'il n'existe aucune traçabilité sur la nature et les proportions des matériaux en place dans le réseau routier français, il est possible de retrouver du goudron dans chaque route ou chemin sous forme d'émulsion entre deux couches intermédiaires, pris dans

⁵³ Brazillet C, Domas D, Pépin G. 2001. Caractérisation des déchets, le goudron dans les déchets du réseau routier : étude bibliographique, méthodes de caractérisation rapides. INERIS, Verneuil en Halate, 85 p.

la masse de l'enrobé ou en enduit de revêtement (Brazillet *et al.*, 2001). Les chaussées peuvent donc être considérées comme des sources potentielles de HAP suite aux altérations mécaniques (fissurations, concassage) qui facilitent le lessivage des HAP contenus dans les différentes couches. En effet, des essais de percolation effectués sur des enrobés bitumineux concassés ont mis en évidence un relargage significatif des HAP dans les premiers percolats (Pépin, 1998)⁵⁴. Cependant, du fait de la variabilité des nombreuses chaussées existantes et de la variabilité de leurs teneurs en HAP, il est difficile d'estimer la contribution de ce type de source dans le cas de la contamination des MES et des sédiments dans le Doubs et dans la Loue.

L'hypothèse d'une origine routière d'une partie de HAP présents dans les sédiments est en accord avec les concentrations en HAP plus élevées retrouvées dans le Doubs par rapport à la Loue. En effet, l'aire d'urbanisation et la proportion de surfaces imperméabilisées sont plus importantes dans le région de Pontarlier. En outre, la proximité avec la Suisse engendre dans cette zone un trafic routier important augmentant chaque année (+ 2,8 % depuis 2008, pouvant dépasser les 20000 véhicules par jour, données DREAL FC).

L'ensemble de ces remarques indique que la situation des deux rivières au regard de la contamination par les HAP est préoccupante. Cependant, nos résultats indiquent que les invertébrés aquatiques semblent moins sensibles à ces contaminants aux concentrations environnementales existantes qu'à d'autres substances chimiques, notamment les insecticides.

En milieu naturel, le biote subit en permanence des stress multiples et des expositions conjointes à de nombreux contaminants. Pour commencer à documenter cette question, nous avons entrepris, à *titre exploratoire*, d'évaluer la toxicité, de prélèvements d'eau et d'effluents échantillonnés *in natura vis à vis* des gammaridés. Les résultats présentés dans la Figure 13 montrent que les effets de cette exposition sur la survie des gammares sont faibles à l'aval des stations d'épuration de Pontarlier et d'Ornans.

⁵⁴ PEPIN, G. (1998). Caractérisation des déchets - Essais de percolation sur deux déchets bitumineux. Verneuil-en-Halatte, INERIS. p 23.

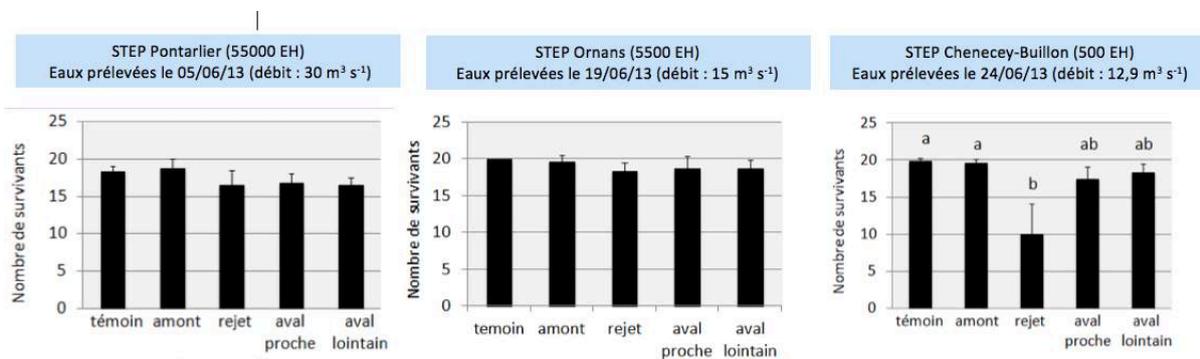


Figure 13. Survie de lots de 20 gammarus *G. pulex* exposés pendant 48 h à des prélèvements d'effluents et d'eau effectués à l'amont, l'aval proche et l'aval lointain de 3 STEP du bassin versant. Moyennes et écart-type des effectifs survivants pour n = 6 réplicats.

Par contre, le rejet de la station de Chenecey réduit de manière très sensible la survie des gammarus. Ces résultats sont cohérents avec ceux de la méta-analyse réalisée précédemment (Chanez *et al.*, 2014) qui indiquent que les effluents issus des stations de petite taille impactent de manière significative la qualité des eaux. Ces premiers résultats montrent l'intérêt de poursuivre cette approche afin d'être en mesure de caractériser objectivement les dangers et les risques.

Une des voies qui semble devoir être explorée est d'identifier les co-occurrences les plus fréquentes et de tenter de comprendre leur déterminisme, c'est-à-dire de comprendre si ces co-expositions sont liées aux usages, aux caractéristiques physico-chimiques des substances, à des processus agro-environnementaux, aux réactions de dégradation métabolisation, etc.. L'identification de cas plus fréquents et potentiellement plus dangereux que d'autres sur la base de critères objectifs (fréquence des co-occurrences, toxicité intrinsèque des substances isolées, possibilités théoriques d'interaction, présence de conditions physico-chimiques renforçant la toxicité des polluants identifiés, etc.) permet alors d'établir des priorités en ce qui concerne l'acquisition de données nouvelles.

La poursuite d'une *whole mixture approach* (mélange complet de contaminants) constitue à cet effet une voie prometteuse. Caricaturalement, la démarche est la suivante : on ne s'inquiète pas dans un premier temps de savoir quelle est la part relative de chacune des substances dans les effets observés et comment ils sont produits, l'objectif est de disposer de repères toxicologiques sur ce mélange considéré comme une substance unique. Dans un second temps, il est alors possible de rechercher au sein du mélange, là où les substances les plus toxiques et de proposer les mesures de gestion *ad hoc*. Les premiers résultats à notre disposition concernant les HAP et pyréthriinoïdes montre que ces derniers constituent un danger plus important et qu'il convient de s'interroger sur leur origine et de mettre en place des mesures de gestion appropriées.

Conclusions

Les concentrations de B(a)PYR mesurées dans nos échantillons sont le plus souvent très inférieures ou inférieures à la concentration létale 50 ($LC_{50-10j} = 11 \mu\text{g g}^{-1} \text{MS}$) déterminée pour la première fois chez *G. pulex* exposé pendant 10 jours à un sédiment artificiellement contaminé, indiquant que cette molécule ne peut à elle seule rendre compte des impacts constatés sur les populations d'invertébrés de la Loue. Cependant, les données disponibles dans la littérature montrent que d'autres espèces d'invertébrés peuvent être beaucoup plus sensibles au benzo(a)pyrène que les gammaridés.

En ce qui concerne les HAP totaux, leurs concentrations dans les MES et les sédiments dépassent systématiquement le seuil $TEC_{\Sigma\text{HAP}}$ ($1610 \mu\text{g kg}^{-1} \text{MS}$), établi par MacDonald et al. (2000), ce qui est préoccupant.

En outre, les résultats obtenus *in situ* montrent l'existence d'une grande variété saisonnière des niveaux de HAP avec des pics observés notamment en période hivernale.

Par ailleurs, nous avons mis en évidence de très grandes similitudes dans les profils moléculaires et les variations temporelles des concentrations en HAP des différentes stations et des différentes campagnes d'échantillonnage. Ceci suggère que les phénomènes à l'origine de la contamination par les HAP opèrent à l'échelle du bassin versant.

En comparant avec les données de la littérature, nous avons constaté que les signatures moléculaires de nos échantillons étaient proches de celles de particules associées à diverses activités humaines.

In natura, les gammaridés et l'ensemble des organismes aquatiques sont exposés simultanément à des mélanges de HAP et à d'autres polluants (notamment différents pesticides). Les tests exploratoires d'écotoxicité que nous avons effectués sur des eaux de la Loue et sur des effluents de STEP montrent que des mortalités significatives peuvent se produire à la suite de l'exposition à ces matrices complexes. Asseoir l'évaluation des dangers et la caractérisation des risques liés aux pollutions chimiques observées dans la Loue constitue un préalable indispensable à leur priorisation et à la mise en place de mesures de gestion appropriées.

L'ensemble des résultats obtenus au cours de l'approche écotoxicologique confirme malheureusement que les contaminants traces organiques présents dans la Loue jouent vraisemblablement un rôle important dans la dégradation des potentiels biologiques du cours d'eau.

Repères quantitatifs indicatifs

Benzo(a)pyrène

Repères toxicologiques

Environmental Quality Standard, EQS (UE 2008) :	50 ng g ⁻¹ MS
Threshold Effect Concentration, TEC (MacDonald <i>et al.</i> , 2000) :	150 ng g ⁻¹ MS
Probable Effect Concentration, PEC (MacDonald <i>et al.</i> , 2000) :	1450 ng g ⁻¹ MS
LC _{50-10 j} <i>G. pulex</i> (le présent travail) :	11 000 ng g ⁻¹ MS

LC _{50-20 j} <i>Chironomus dilutus</i> (Du <i>et al.</i> , 2013) :	92 µg g ⁻¹ OC
LC _{50-10 j} <i>G. pulex</i> (le présent travail)	660 µg g ⁻¹ OC

LC _{50-24 h} <i>G. duebeni</i>	371,00 µg L ⁻¹
*LC _{50-10 j} <i>G. pulex</i> (le présent travail)	0,85 µg L ⁻¹

LC = concentration intersticielle correspondant à la LC50 sédimentaire

Concentration particulaire moyenne

Doubs :	464,60 (477,77) ng g ⁻¹ MS
Loue :	210,33 (146,71) ng g ⁻¹ MS

Concentrations maximales

Concentration maximale Doubs :	2513,7 ng g ⁻¹ MS
Concentration maximale Loue :	828,8 ng g ⁻¹ MS

HAP totaux (Σ₁₆ US EPA)

Repères toxicologiques

Environmental Quality Standard, EQS (UE 2008) :	néant
Threshold Effect Concentration, TEC (MacDonald <i>et al.</i> 2000) :	1610 ng g ⁻¹ MS
Probable Effect Concentration, PEC (MacDonald <i>et al.</i> 2000) :	22800 ng g ⁻¹ MS

Concentration particulaire moyenne

Doubs :	2697,3 (624,5) ng g ⁻¹ MS
Loue :	6070,0 (5630,8) ng g ⁻¹ MS

Concentrations maximales

Concentration maximale Doubs :	30,55 µg g ⁻¹ MS
Concentration maximale Loue :	14,81 µg g ⁻¹ MS

Informations sur le benzo(a)pyrène

Informations générales

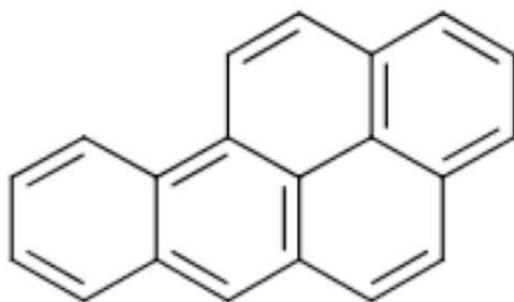
numéro CAS : 50-32-8

famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui contient une centaine de composés (*US Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs*)

B(a)PYR = molécule de référence du fait de sa cancérogénicité et de sa toxicité

Formule moléculaire brute : $C_{20}H_{12}$

Formule développée



Sources : pas d'usage technique, produit de combustion incomplète ou de pyrolyse de matériaux organiques

présents dans les suies et fumées de toutes origines, dans les gaz d'échappement des moteurs à explosion, dans la fumée de cigarette, etc.

présents à des concentrations très diverses et par ordre décroissant, dans les composés suivants : le goudron de houille et ses dérivés (huiles anthracéniques et brai), les huiles de schiste, les huiles minérales, les extraits aromatiques et les paraffines brutes tirés du pétrole ; certains bitumes ; le noir de carbone.

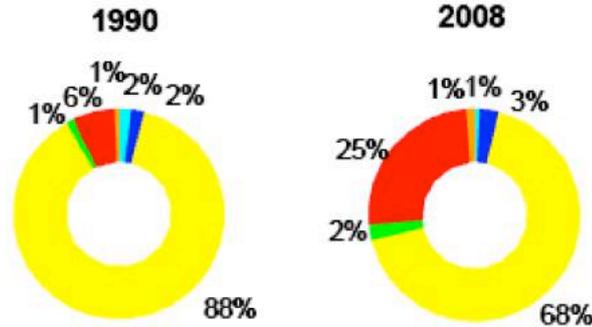
formation d'aérosols de B(a)PYR dans des procédés industriels : cokeries, fabrication et utilisation des électrodes dans l'industrie de l'aluminium, fonderies de fonte et d'acier, fabrication d'agglomérés de charbon, épandage routier, opérations d'usinage, de trempé, nettoyage des fours et tuyauteries.

Emissions en France en 2013 : 20 t an^{-1}

Evolution des émissions 1990 – 2013 = -54 %

(CITEPA, 2015)

Emissions par secteur



(CITEPA, 2015)

Toxicité, cancérogénicité

Toxicité aigüe

DL₅₀ : 250 mg kg⁻¹ par voie intrapéritonéale (ip) chez la souris,

DL₅₀ : 50 mg kg⁻¹ par voie sous-cutanée chez le rat

IARC : groupe 1 probablement cancérogène chez l'homme

NIH groupe B2 cancérogène probable chez l'homme

Classification CMR selon la directive 67/548/CEE modifiée :

- Cancérogène de catégorie 2,
- Mutagène de catégorie 2,
- Reprotoxique de catégorie 2

Classes de danger CMR selon le règlement CLP (Classification, Labelling and Packaging, Regulation (CE) 1272/2008):

- Cancérogénicité catégorie 1B
- Mutagénicité sur les cellules germinales catégorie 1B
- Toxicité pour la reproduction catégorie 1B

B[a]P génotoxique, mutagène, cancérogène

Toxicocinétique

B[a]P absorbé par voie orale, pulmonaire ou cutanée

après absorption, rapidement et largement distribué dans tout l'organisme

B[a]P transformé en une vingtaine de métabolites oxydés et en un grand nombre de composés conjugués

oxydation initiale effectuée par une monooxygénase à cytochrome P450.

Niveaux environnementaux

valeur limite 0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Décret n°2001-1220 du 20 décembre 2001) dans les eaux destinées à la consommation humaine

valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) : CNAM, objectif provisoire [B(a)PYR] < 150 ng/m^3

valeur limite annuelle : 1 ng m^3 , objectif à long terme : 0,1 ng m^3 (directive européenne 2004/107/CE) .

Devenir dans l'environnement (HAP)

stable jusqu'à des températures élevées (persistants), non polaires (hydrophobes), volatilité variable

très peu soluble dans l'eau, solubilité dans l'eau : $3 \cdot 10^{-6} \text{ g L}^{-1}$ à 25°C,

soluble dans de nombreux solvants organiques, lipophile Log Kow : 5,97

polluants organiques persistants (POP)

- toxiques car impacts prouvés sur la santé humaine
- persistants dans l'environnement car peu dégradés dans l'environnement naturel et par les organismes vivants
- bioaccumulable du fait de leur faible solubilité aqueuse et leur forte solubilité dans les lipides.
- transportée sur longue distance : du fait de leurs propriétés de persistance et de bioaccumulation, ces composés semi-volatils peuvent se déplacer sur de longues distances et se déplacer loin des lieux d'émission, typiquement des milieux chauds (à forte activité humaine) vers les milieux froids.