



HAL
open science

Évaluation du risque sanitaire lié à l'ingestion involontaire de sol : étude des propriétés du sol sur la biodisponibilité relative des PCB

Matthieu Delannoy

► **To cite this version:**

Matthieu Delannoy. Évaluation du risque sanitaire lié à l'ingestion involontaire de sol : étude des propriétés du sol sur la biodisponibilité relative des PCB. Sciences agricoles. Université de Lorraine, 2014. Français. NNT : 2014LORR0294 . tel-01751388

HAL Id: tel-01751388

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01751388v1>

Submitted on 29 Mar 2018

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



Université de Lorraine

École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR AFPA)

École Doctorale Sciences et Ingénieries des Ressources, Procédés, Produits et Environnement (RP2E)

THÈSE :

Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Sciences Agronomiques

Soutenue publiquement le 3 décembre 2014

DELANNOY Matthieu

Évaluation du risque sanitaire lié à l'ingestion involontaire de sol - Étude des propriétés du sol sur la biodisponibilité relative des PCB

Directeur de thèse : FEIDT Cyril

Co-directeur de thèse : RYCHEN Guido

Membres du Jury :

Rapporteurs :

CAVE Mark, Responsable Unité de recherches Medical Geology, British Geological Survey, Nottingham (UK)

MOUGIN Christian, Directeur de recherche INRA, unité INRA Centre de Versailles-Grignon, Versailles

Examineurs :

DENYS Sébastien, Chef de l'unité "Méthodologie et Etudes Relatives aux Risques Physico-Chimiques" HDR, ANSES, Maisons-Alfort

DUMAT Camille, Professeur, INPT, ENSAT, Toulouse

FEIDT Cyril, Professeur, Université de Lorraine - ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy

LEGLIZE Pierre, Maître de conférences, Université de Lorraine - ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy

RYCHEN Guido, Professeur, Université de Lorraine - ENSAIA, Vandœuvre-lès-Nancy

Invité :

ROUSSEL Hélène, Chef de projet "Sites Pollués", ADEME, Angers

Les polychlorobiphényles (PCB) et notamment les congénères les plus présents dans les sites et sols pollués, les PCB *non dioxin like*, constituent un danger sanitaire potentiel. Le risque associé est exacerbé chez le jeune enfant (6 mois à 3 ans) du fait, notamment, de son comportement exploratoire qui, de plus, a lieu durant une période critique de la croissance. Dans la démarche actuelle, l'évaluation de l'exposition de l'homme ne tient pas compte de la biodisponibilité des PCB, conditionnant pourtant l'exposition de l'individu. L'objectif principal de cette thèse a été de caractériser l'impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité relative des PCB. La mesure de la biodisponibilité relative a été réalisée chez le porcelet, modèle physiologique de la digestion de l'enfant.

Les résultats *in vivo* initiaux ont permis de valider les conditions d'emploi de la biodisponibilité relative. La linéarité de la courbe dose-réponse a ainsi été validée ($p < 0,05$) pour le tissu adipeux, principal tissu accumulateur pour les PCB montrant la pertinence d'utiliser ce tissu pour évaluer la rétention des PCB par le sol. Une seconde étude a montré l'impact des caractéristiques de la matière organique des sols sur la biodisponibilité relative des PCB par l'emploi de sols artificiels. Plusieurs matières organiques standardisées ont été testées allant des matières organiques solubles (acides fulviques, acides humiques) à une matière organique à la condensation maximale : le charbon actif, modèle du *black carbon*. Ces éléments ont permis de montrer de larges variations de biodisponibilité relative allant d'une biodisponibilité relative nulle (charbon actif) à 100% (acide fulvique). Ces données soulignent l'importance de la condensation de la matière organique dans la rétention des PCB durant les processus digestifs. Une troisième approche s'est focalisée sur l'impact de caractéristiques (pH, teneur en carbone organique, argile, *black carbon*, concentrations en PCB) de sols historiquement contaminés sur la biodisponibilité relative. Ces deux approches ont permis de souligner l'importance du taux de carbone organique et en *black carbon* sur la rétention des PCB. Malgré les variations importantes en concentrations en *black carbon* (0,05% - 0,6%) et en carbone organique (1,2 - 18%), seuls 3 sols ont révélé une biodisponibilité relative des PCB significativement diminuée. Seuls des niveaux importants en carbone organique (>10%) et en *black carbon* (>0.3%) ont entraîné une diminution de la biodisponibilité relative. Toutefois la biodisponibilité relative demeure supérieure à 45% quel que soit le sol étudié. Les PCB sont donc peu retenus par le sol. Ainsi, l'exposition aux PCB via l'ingestion de sol semble proportionnelle au produit de la quantité de sol ingérée et de sa concentration en PCB-NDL.

Mot Clés : PCB, Biodisponibilité relative, Évaluation de l'exposition, Sol, POP

Polychlorobiphenyls (PCBs) and, overall, non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) the most abundant congeners in contaminated environmental matrices, constitute a potential health hazard. This risk is even more acute for young children (6 month to 3-year-old) because of their mouthing activities and because this exposure occurs during a critical part of their growth. According to the risk assessment procedure in France, bioavailability is not yet taken into account in the exposure assessment. As this concept drives the effectiveness of exposure of organisms, this parameter could be of great interest. The main objective of this thesis was to characterize the impact of soil's characteristics on the relative bioavailability of PCBs. Relative bioavailability was measured in piglets, an adequate model of children in terms of digestive processes.

The first in vivo study lead to validation of the relative bioavailability conditions of use. Linearity of dose-response relationship has been validated ($p < 0.05$) for adipose tissue, the main tissue in terms of accumulation of PCBs. This result highlights the pertinence of using adipose tissue for assessing retention of PCBs by soil. A second study was realized to demonstrate the impact of the soil organic matter characteristics on the relative bioavailability of PCBs by using artificial soils. Several standardized organic matter were tested ranging from soluble organic matters (fulvic acids, humic acids) to one organic matter highly condensed, activated carbon, a model of black carbon. These elements lead to show important variations in terms of relative bioavailability from 0% (activated carbon) to 100%, maximal relative bioavailability (fulvic acids). These findings highlight the importance of OM condensation in terms of PCB retention during the digestive processes. A third approach was focused on the impact of organic carbon, black carbon and clay content, pH, NDL-PCBs concentrations in historically contaminated soils on bioavailability. This approach tended to show the importance of organic carbon and black carbon content on retention of PCBs. Despite important variations in terms of black carbon content (0.05% - 0.6%) and organic carbon (1.2 – 1.8%), only 3 soils exhibited a significant reduction of relative bioavailability. However, relative bioavailability was found to be higher than 45%, whatever the soil. Thus, PCBs retention in contaminated soils appears rather limited. Finally, exposure to PCBs via soil ingestion appears proportional to the quantity ingested.

Keywords: PCB, Relative bioavailability, Exposure assessment, Soil, POP.

REMERCIEMENTS - ACKNOWLEDGEMENT

Je tiens à remercier l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de L'Energie qui a permis et soutenu financièrement ce projet. Je tiens tout particulièrement à remercier M^{me} Hélène Roussel pour son apport précieux dans la collecte des sols et son appui scientifique, éléments indispensables dans la concrétisation de ce projet. Je tiens à remercier également M^{me} Eugénie Romero, M Jérémy Muller, M Florian Philippon, qui m'ont donné accès et informations à ces sites pollués.

Cette thèse a été réalisée au sein de l'Unité de Recherche Animal et Fonctionnalité des Produits Animaux. Je tiens à vivement remercier Cyril Feidt pour son implication continue, ses encouragements répétés, son encadrement amical mais rigoureux tout au long de ce travail. Je tiens à particulièrement remercier Guido Rychen, pour son accueil amical au sein de son laboratoire, sa réactivité sans défaut et ses conseils avisés dispensés tout au long de cette thèse. Un grand merci à Agnès Fournier pour sa réactivité, sa patience, sa rigueur constructive et son écoute aux instants les plus importants de cette thèse. La complémentarité de nos échanges a permis de concrétiser ces travaux, merci encore à vous.

Je remercie Monsieur Cave Mark, Responsable Unité de recherches au BGS, Keyworth, Royaume-Uni et Monsieur Mougin Christian, Directeur de recherche et responsable d'une unité INRA Versailles-Grignon, de me faire l'honneur de juger ce travail. Je remercie également Madame Dumat Camille, Professeur à l'ENSAT, Toulouse, ainsi que Monsieur Denys Sébastien, Directeur d'unité à l'ANSES pour avoir accepté d'examiner ces travaux.

Mes sincères remerciements vont également à Jessica Schwarz, si je ne peux m'exprimer en sa langue maternelle, Jessica a su, à force de patience, me relire comme m'écouter... même en anglais. Merci pour ta bonne humeur et ta joie de vivre, ne change pas ! Merci à Sylvain Lerch pour son amitié, ses conseils et analyses qui m'ont été précieux.

Je tiens à remercier chaleureusement Christine Grandclaudon, Pamela Hartmeyer, Claire Soligot, Catherine Larrière, Katy Poiret et Hervé Toussaint pour leur aide précieuse durant la réalisation de ce travail. Merci tout particulièrement à Christine Grandclaudon et Pamela Hartmeyer qui ont été la force vive de ce projet et dont les seules boulettes... ont été celles distribuées aux porcelets. Merci encore pour votre courage et volonté ! Merci à Thibault Duval, Aude Delangle et Sophie Poinignon pour leurs compétences et rigueur qui ont constitué une aide précieuse et appréciée durant les trois années passées.

Je remercie également toutes les personnes de l'équipe « *Micropolluants et Résidus dans la Chaîne Alimentaire* ». Ce travail de thèse est l'aboutissement d'un travail d'équipe. Merci, tant pour l'aide que pour les conseils, qu'ils soient scientifiques ou techniques, ainsi que le soutien que vous m'avez prodigué.

Si les analyses statistiques ont soulevé nombre de questions de ma part, j'ai pu compter tout particulièrement sur les compétences et la patience de Catherine Jondreville, Stefan Jurjanz et Yves Le Roux. Merci pour leur grande aide!

I especially thank all the BGS members of the team « Applied and Medical Geochemistry » who had warmly welcome us. In addition, Agnès and I are grateful to Darren Beriro, Joanna Wragg Stephen Lowe, Christopher Vane, Alexander Kim and Mark Cave for their warm welcome to the BGS facility and realization of the FOREhST. It is a real pleasure to collaborate with you!

Je remercie l'équipe « Géochimie organique et minérale de l'environnement » du département de géochimie de l'UMR Métis pour m'avoir accueilli et aidé lors des analyses de sols. Je tiens à particulièrement remercier M^{me} Katell Quenea pour ses conseils et pour m'avoir offert la possibilité de caractériser les sols et m'avoir ouvert à un monde analytique qui m'était inconnu. Je remercie aussi M^{me} Christelle Anquetil pour son aide déterminante dans cette caractérisation.

Un grand merci à tous mes collègues de bureau présents dans les meilleurs moments comme dans les plus difficiles. Merci, ainsi, à Juliette Gaillard pour sa patience continue, sa force tranquille réconfortante et nos soirées endiablées. Merci pour ces moments partagés. Merci à Marie-Laure Lastel pour sa bonne humeur communicative malgré le froid qui étreint Nancy chaque hiver, ou chaque automne, enfin peut être un peu tout le temps. Merci à Cécile Bouveret, l'australienne, j'espère que la voi(e/x) que tu pratiques te convient ! Merci à Eléna Dominguez pour son énergie communicative. C'était une joie de travailler avec vous !

Je n'oublie pas Thomas Béchu, Clémence Bagard, Grégoire Lambert, Elodie Marchal, Flora Dartiailh, Amandine Menet, Hugues Debruyne, Aurore Guy, Céline Dequidt et Justine Reinhart pour leur participation active à ces travaux. Un merci particulièrement amical à Adeline Marion qui a troqué mes porcelets lorrains pour la chèvre lorraine.

Je remercie également Damien Banas pour son amitié et la mémorable sortie à ramasser du sédiment dans un bras mort pollué, sortie m'ayant permis de m'initier aux délicats plaisirs des bains de vases.

Je remercie Agnès Fournier pour s'être montrée particulièrement attentive et me sustenter quand le temps me manquait en brisant la sempiternelle chaîne de plats préparés. Je ne pourrai rendre aux talents gastronomiques d'Agnès l'hommage qu'il mériterait, mais merci beaucoup pour cette forme de soutien comme toutes celles que tu m'as témoigné.

Un merci sous forme de rappel à Cyril et Sonia Feidt, qui m'ont soutenu durant ce parcours. Merci pour ces rigolades, ces week-ends à l'exploitation, les volailles plumées et les balades.

Je tiens à remercier mes colocataires qui ont pu, jusqu'à présent, me supporter, Romain Mathieu et Jean-Briec Vaudour. Merci pour ces moments et votre écoute.

Je remercie mes amis pour m'avoir apporté soutien, réconfort et égayé mon parcours. Tout d'abord Maud Alix, Juliette Gaillard et Brian Four pour les soirées sur Nancy, les discussions endiablées sur la position du

thésard dans la chaîne alimentaire. Sans vous je n'aurai certainement pas pu finir ce travail, du moins sans ce qu'il me reste de santé mentale. Je remercie Hélène Molins et Cédric Hoffbour pour leur amitié, les soirées improvisées. Je tiens à remercier Isabelle Dumas, Céline Faverjon, Anaïs Léger, Charline Rameau et Gérard Mac-Wing pour leur amitié et soutien témoignés malgré la distance. Enfin un grand merci à Christophe Arthur, Stéphane Bordeaux, Thomas Duluc, Maxime Rouquet, Cyrielle et Pierre Sanguinetti ainsi que Jean Yahiaoui pour leur soutien.

Enfin, je remercie toute ma famille et avant tout mes parents qui par la force de leur soutien m'ont permis d'arriver jusque-là. Je remercie tout particulièrement, aussi, Sophie et Alexia. Je remercie tous mes cousines, cousins, tantes, oncles et ma filleule pour pour m'avoir témoigné tendresse et affection tout au long de mon parcours. Je remercie mes grands-parents pour m'avoir soutenu et encouragé tout du long de ma scolarité, Paul et Odette Herlemont ainsi que Marie Delannoy.

PUBLICATIONS :

• **internationales**

Delannoy M., Rychen G., Fournier A., Jondreville C., Feidt C. (2014)

Effects of organic condensed organic matter on PCBs bioavailability in juvenile swine, an animal model for young children. *Chemosphere*, 104, pp. 105-112

Delannoy, M., Schwarz, J., Fournier, A., Rychen, G. and Feidt, C.

Effects of standard humic materials on relative bioavailability of ND-L-PCBs in juvenile swine. *Plos One*, 9(12): e115759

Delannoy, M., Fournier, A., Tankari Dan-Badjo, A., Schwarz, J., Lerch, S., Rychen, G. and Feidt, C.

Impact of soil characteristics on relative bioavailability of ND-L-PCBs in piglets. *J. Haz. Mat., soumis*

COMMUNICATIONS ORALES :

• **internationales**

Delannoy M., Fournier A., Rychen G., Feidt C. (2013)

Exposure assessment of sequestered organic compounds in polluted sites and soils: use of a juvenile animal model to estimate their relative bioavailability. 29th International Conference of the Society for Environmental Geochemistry and Health 8-12 juillet, Toulouse (France)

Delannoy M., Fournier A., Rychen G., Feidt C. (2013)

Effect of Organic Matter Quality on ND-L-PCBs Sequestration: Relative Bioavailability Assessment using Juvenile Piglet. 7th International Workshop on Chemical Bioavailability in the Terrestrial Environment, 3-6 novembre, Nottingham, Royaume-Uni, p. 94-95

• **nationales**

Delannoy M., Fournier A., Rychen G., Feidt C. (2014)

Réduction de la biodisponibilité des PCB ND-L par le sol : impact de la matière organique condensée. 3^{ème} rencontres nationales de la Recherche sur les sites et sols pollués, 18-19 novembre, Paris, France

COMMUNICATIONS AFFICHEES :

• **congrès internationaux**

Delannoy, M., Duval, T., Fournier, A., Rychen, G., Feidt, C. (2012)

Dose-response relationships of indicator-PCBs in orally exposed piglets. 7th PCB Workshop, 27-31 mai, Arcachon, France

Delannoy M., Duval T., Fournier A., Rychen G., Feidt C. (2013)

Reduction of PCB Bioavailability by condensation of organic matter: Assessment of linearity and concentrations in tissues of orally exposed piglets. 23rd Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC Europe), 12-16 mai, Glasgow, Royaume-Uni

Rychen G., Fournier A., Marchand P., Dugny F., Grunwald AL, Toussaint H., **Delannoy M.**, Le Bizec B., Feidt C. (2013)

PCB decontamination in accidentally exposed heifers. 23rd Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC Europe), 12-16 mai, Glasgow, Royaume-Uni

Delannoy M., Fournier A., Rychen G., Cave M., Feidt C.(2014)

Assessment of the impact of organic matter in NDL-PCBs sequestration in industrially contaminated soils : comparison of an *in vitro* bioaccessibility and an *in vivo* relative bioavailability assays. 24th Annual Meeting of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC Europe), 11-15 mai, Basel, Suisse

Delannoy M., Fournier A., Rychen G., Cave M., Feidt C.(2014)

Assessment of the impact of organic matter in NDL-PCBs sequestration in industrially contaminated soils: an *in vivo* relative bioavailability assay. 30th International Conference of the Society for Environmental Geochemistry and Health – 30 juin - 4 juillet, Newcastle, Royaume-Uni

Delannoy M., Schwarz J., Fournier A., Rychen G., Narbonne J.F., Feidt C. (2014)

Effects of standard humic materials on relative bioavailability of NDL-PCBs in juvenile swine. 8th PCB Workshop, 5-9 octobre, Woods Hole, USA

- **congrès nationaux**

Delannoy M., Rychen G., Jondreville C., Feidt C. (2013)

Evaluation quantitative du risque d'exposition sur sols pollués par les PCB - Apport de la notion de biodisponibilité relative. Rencontres Qualiméditerranée, 13-14 novembre, Montpellier

- **séminaire de l'école doctorale RP2E**

Delannoy, M., Duval, T., Fournier, A., Rychen, G., Feidt, C. (2013)

Réduction de la biodisponibilité des PCB par la matière organique condensée : linéarité de la dose-réponse et concentrations retrouvées dans les tissus des porcelets. Séminaire interne de l'école doctorale RP2E, 17 janvier, Vandœuvre-lès-Nancy, France

Résumé	i
Abstract.....	ii
Remerciements - Acknowledgement.....	iii
Valorisation Scientifique des Travaux de Thèse	vii
Table des Matières	ix
Liste des Figures.....	xv
Liste des Tableaux.....	xviii
Liste des Abréviations.....	xix

Introduction Générale.....	1
Synthèse Bibliographique.....	5
PARTIE 1: Les PCB : identification du danger, évaluation des risques et aspects réglementaires.....	7

1. L'évaluation des risques liés aux contaminants environnementaux : approche méthodologique....	7
2. Les PCB et leur production.....	9
a. Formule et nomenclature des PCB.....	9
b. Propriétés physico-chimiques	9
c. Données de production et d'utilisation.....	9
3. Les PCB et l'environnement	11
4. Le danger sanitaire que constituent les PCB : différences entre PCB DL et NDL	11
5. Réglementation et protection de la population.....	12
6. L'ingestion de sol par l'enfant	14

PARTIE 2: Biodisponibilité orale et toxicocinétique des PCB : lien entre dose absorbée et réponse dans les organes cibles, description des méthodes d'évaluation.....	17
--	-----------

1. La notion de biodisponibilité	17
2. Les méthodes d'évaluation de la biodisponibilité.....	21
a. L'évaluation de la biodisponibilité <i>in vivo</i> chez l'Homme	21
i. Le choix du modèle animal.....	21
(i-1). Les espèces usuellement utilisées en biodisponibilité.....	21
(i-2). Les différences morpho-anatomiques.....	21
– L'estomac.....	21
– L'intestin grêle.....	25
– Le colon	25
(i-3). Les différences physiologiques.....	25
– Le pH	26
– La bile.....	26

(i-4). Recommandations existantes, synthèse et choix.....	26
ii. Méthodologie de la mesure de la biodisponibilité	27
– La biodisponibilité absolue	28
– La biodisponibilité relative	28
b. Évaluation de la bioaccessibilité	29
– Les tests <i>in vitro</i> dynamiques.....	30
– Les tests <i>in vitro</i> statiques	30
c. Nécessité d’une validation	30

PARTIE 3: La biodisponibilité toxicologique : l’atteinte des organes..... 32

1. La biodisponibilité toxicologique des PCB : approche descriptive et complexité des approches quantitatives.....	32
a. L’absorption	32
b. La distribution	33
c. La métabolisation	37
d. L’excrétion	38

PARTIE 4: L’incidence des constituants du sol sur la rétention des contaminants organiques 41

1. Facteurs de variation de la biodisponibilité.....	41
a. La Matière Organique	43
b. La phase minérale.....	47
2. Les caractéristiques physico-chimiques du sol	51
a. Les conditions d’hydratation et électrochimiques du sol	51
i. Le vieillissement du sol et de la contamination	55
3. Les modèles de sorption-désorption ou l’approche de la biodisponibilité par la « biomimétique » 59	
a. Les modèles basés sur la partition par diffusion simple.....	59
i. L’isotherme d’Henry (1968) (Nguyen, Goss, et Ball, 2005).....	59
ii. L’isotherme de Langmuir 1990 (Cornelissen <i>et al.</i> , 2005).....	60
iii. Le modèle d’absorption de Freundlich	60
iv. Les modèles mixtes.....	61
– Le “ <i>Distributed Reactivity Model</i> ” (DRM).....	61
– Le modèle « <i>Dual-Mode sorption Model</i> » (DMM)	63
v. Adéquation de modèle de sorption et des données de modélisation	64
– Impact du mécanisme de piégeage sur la cinétique	64
– Vieillissement et hystérésis.....	65

Orientation des Travaux de Thèse 69

1. Conclusion de l’approche bibliographique.....	71
2. Organisation générale des travaux expérimentaux de thèse.....	72

Sites d’études, Prélèvements et Caractérisation des sols..... 73

1. Choix des sites d’études, des sols et mode opératoire des prélèvements	75
a. Identification des sites présentant des sols contaminés	75
b. Acquisition des sols.....	77
i. Saint-Cyprien (Loire, 42 160).....	77

ii. Reverdy (Haute-Saône, 70 230).....	77
iii. Korsec (Basse-Ham, Moselle, 57 970)	77
iv. Dieulouard (Meurthe-et-Moselle, 54 380)	79
v. Ploufragan (Côtes-d’Armor, 22 440).....	79
c. Caractérisation des sols.....	79
i. Préparation des échantillons	79
ii. Détermination des concentrations en PCB-NDL dans les échantillons.....	79
iii. Détermination du pH, de la quantité de carbone organique, de la granulométrie et du <i>black carbon</i>	81
d. Sélection des sols pour les manipulations <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	81

Biodisponibilité Relative : validation méthodologique 83

ARTICLE 1: Effects of condensed organic matter on PCBs bioavailability in juvenile swine, an animal model for young children..... 85

1. Abstract	85
2. Introduction.....	86
3. Material and methods.....	87
a. Experimental design.....	87
b. Dosing material	87
i. Spiked oil	87
ii. Artificial soils and spiking.....	89
iii. Dough ball manufacturing	89
c. Animals	90
i. Assessment of the dose-response linearity.....	90
ii. Assessment of the oral bioavailability	90
d. Sampling and analysis of biological samples.....	90
i. Extraction.....	91
ii. Purification.....	91
iii. Quantification	91
e. Calculations and statistical analyses	91
i. Assessment of linearity	91
ii. 92	
iii. Incidence of condensation of OM on bioavailability.....	93
iv. Relative bioavailability factors (RBA) calculation.....	93
4. Results.....	93
a. Assessment of the dose-response linearity.....	93
b. Incidence of condensed OM on RBA	95
5. Discussion	95
6. Conclusion	97
7. Acknowledgements.....	97

Impact de matières organiques standardisées sur la biodisponibilité relative 99

ARTICLE 2: Effects of standard humic materials on relative bioavailability of ND-L-PCBs in juvenile swine 101

1. Abstract.....	101
2. Introduction.....	101

3. Materials And Methods.....	104
a. Experimental design.....	104
b. Animals, ethics and housing.....	104
c. Dosing material and method of exposure to NDL-PCBs.....	105
i. Exposure matrices.....	105
ii. Spiking technique.....	105
d. Sampling and analysis of biological samples.....	105
e. Data analyses.....	107
i. Quality control of the data set.....	107
ii. Effect of OM on NDL-PCBs' adipose tissue concentrations.....	107
iii. Relative bioavailability (RBA) estimates calculation.....	107
4. Results.....	109
a. Effect of OM on NDL-PCBs concentrations in adipose tissue.....	109
b. Impact of OM on RBA estimates.....	109
5. Discussion.....	111
6. Conclusion.....	114

Impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité relative..... 115

**ARTICLE 3:Impact of soil characteristics on relative bioavailability of NDL-PCBs in piglets
..... 117**

1. Abstract.....	117
2. Introduction.....	117
3. Materials and methods.....	119
a. Preparation of exposure matrices.....	119
i. Spiking technique of oil.....	119
ii. Sampling of soils.....	121
b. Experimental design.....	121
c. Exposure of piglets to soil and oil: hand-feeding procedure, dosing and repetitions.....	121
d. Animals, ethics and housing.....	122
e. Analyses of exposure matrices.....	122
f. Analysis of biological samples.....	123
g. Data analyses.....	123
i. Quality control of the data set and data treatment.....	123
ii. Relative bioavailability (RBA) estimates calculation.....	123
iii. Principal component analysis (PCA).....	125
4. Results and discussion.....	125
a. Experimental matrices.....	125
b. Growing performances of piglets.....	127
c. Linearity check of the dose-response relationship.....	127
d. Impact of soils on RBA.....	127
e. Factors affecting the retention of NDL-PCBs by the soil matrix.....	129
f. Processes of sequestration of NDL-PCBs.....	130

Appendix..... 131

Discussion Générale..... 133

1. Le sol : son impact sur la biodisponibilité relative des PCB.....	134
a. Les caractéristiques du sol : détermination de leur importance respective.....	134

b. Rétention des POP par la matière organique durant la digestion	134
2. Mécanismes de rétention de la matière organique lors des processus digestifs	138
a. Impact des conditions électrochimiques du tube digestif sur la rétention des polluants par le sol ..	138
b. Augmentation de la solubilisation et de la diffusion des PCB-NDL par les processus digestifs	139
3. Apport des études pour l'évaluation des risques sur sites et sols contaminés aux PCB	141
a. Évaluation de l'exposition externe et applications en termes d'évaluation quantitative des risques sanitaires.....	141
b. Évaluation comparative de l'exposition aux PCB-NDL par voie alimentaire et par ingestion involontaire de sols contaminés	143
Conclusion Générale et Perspectives	145
Références Bibliographiques.....	151

Figure 1 : Place de l'évaluation des risques au sein de la démarche globale aboutissant à la gestion du risque.....	6
Figure 2 : Episode de Yusho : prise de conscience de la dangerosité associée au PCB.	6
Figure 3 : Synthèse des PCB et formule générale	8
Figure 4 : Les sources industrielles de PCB et applications	8
Figure 5 : Concentrations dans les sols du PCB 153 à l'échelle du monde.	10
Figure 6 : Concentrations dans les sédiments ($\mu\text{g.Kg}^{-1}$).	10
Figure 7 : Niveaux de concentrations en PCB totaux rencontrés dans les sols d'après la littérature : niveaux environnementaux usuellement rencontré (A) et lors d'un historique de contamination connu (B).	10
Figure 8 : Nécessité d'évaluer la fraction absorbée dans la démarche d'évaluation des risques.....	16
Figure 9: Étapes de la biodisponibilité.....	16
Figure 10: Etapes et niveaux d'analyse associés à la définition de la biodisponibilité d'un contaminant du sol.	18
Figure 11 : Étapes successive de la biodisponibilité et méthodes d'évaluation.....	20
Figure 12 : Variation dans le type et la distribution de la muqueuse gastrique	24
Figure 13: Répartition tissulaire des PCB totaux	34
Figure 14: Représentation schématique informatique de la protéine CC10 et modélisation de la liaison avec un PCB méthyl sulfoné.....	34
Figure 15 : Schéma des voies métaboliques des PCB chez l'animal.....	36
Figure 16 : Les principaux métabolites des PCB chez l'animal.	36
Figure 17 : Représentation schématique du sol comme interface entre les quatre compartiments biogéochimiques.....	40
Figure 18: Représentation multi-échelle de la structure du sol : de l'horizon à la particule.....	40
Figure 19 : Porosité multi-échelle du sol.	40
Figure 20: Évènements possibles survenant lors de la contamination d'un sol par un polluant organique.....	40

Figure 21 : Humification, évolution de la matière organique et condensation.	42
Figure 22 : Estimation de la concentration de HAP solubles en fonction de la concentration de HAP totaux dans les sols urbains ou agricoles présentant des teneurs en carbone organique (CO) variable.....	44
Figure 23 : Réduction de la disponibilité et de la biodisponibilité suivant la nature et la quantité de charbon actif.	46
Figure 24 : Concentrations en PCB dans les tissus d' <i>E. foetida</i> après 28 jours d'exposition à des sédiments artificiels contaminés artificiellement.....	46
Figure 25: Condensation de la matière organique et effet supposé sur la biodisponibilité.	46
Figure 26 : Granulométrie selon l'AFNOR, 1998.	48
Figure 27 : L'argile : du tétraèdre et de l'octaèdre au feuillet.	48
Figure 28 : Disposition des feuillets d'argile des couches tétraédriques.	48
Figure 29 : Isotherme de sorption/désorption d'un pesticide : le 4,6-dinitro-o-cresol suivant (1) la nature électrochimique de l'argile, (2) la présence ou non d'acides humiques.....	50
Figure 30 : Isotherme de sorption de deux composés organique : le 1,3,5-trichlorobenzene (TCB), apolaire, et du 1,3,5-trinitrobenzene (TNB), polaire, dans un sol standard après extraction séquentielle de la matière organique.	50
Figure 31: Microporosité d'une argile lamellaire (a) et gonflante (b) au microscope à balayage électronique à basse température.	52
Figure 32 : Variation de la bioaccessibilité des HAP en fonction du pH et du ratio Solide/Liquide lors des phases (A) gastrique (B) intestinale.....	52
Figure 33 : Variation de bioaccessibilité du plomb (Pb), du manganèse (Mn) et du fer (Fe) suivant le traitement de conditionnement du sol utilisé.....	54
Figure 34 : Variation de l'extraction d'un pesticide polaire, l'anilazine, suivant le nombre de cycles de séchage-réhydratation.....	54
Figure 35 : Différence de structure d'un sol séché une première fois et une seconde fois.....	56
Figure 36 : Représentation schématique des propriétés et sensibilités aux conditions du milieu environnant associées aux différentes matières organiques suivant leur degré de condensation.....	56
Figure 37 : Influence des argiles sur la sorption des contaminants organiques et variation des propriétés par le milieu environnant.	58
Figure 38 : Description et schémas explicatifs du modèle linéaire par partition.....	58

Figure 39 : Limite du modèle linéaire : non correspondance entre les données de sorption du phénanthrène et le modèle linéaire par partition.	58
Figure 40 : Description de la matière organique comme un colloïde en solution aqueuse.....	62
Figure 41 : Conceptualisation du " <i>Dual Mode sorption Model</i> " telle que présentée dans la publication de Xing et Pignatello (1997).	62
Figure 42: Localisation des sites de prélèvement et approvisionnement en sol.....	76
Figure 43: Schéma de la parcelle de St Cyprien contaminée ayant pris feu et le quadrillage (parcelle 132).....	78
Figure 44 : Animal management and experimental design of the study.	88
Figure 45 : Dose-response relationships of NDL-PCBs in liver, muscle and adipose tissue	92
Figure 46: Animal management and experimental design of the study.....	102
Figure 47 : Concentrations (ng.g ⁻¹ of fat) of NDL-PCBs in adipose tissue. Each value represents the adjusted mean ± standard error.	108
Figure 48 : Mechanistic approach of retention and bioavailability of NDL-PCBs bound to OM.	112
Figure 49 : Experimental design of the present study.....	120
Figure 50 : Profile of NDL-PCBs congener (PCB 101, 138, 153 and 180) and total NDL-PCBs concentrations (µg g ⁻¹ dry matter) in 9 contaminated soils collected in 5 different locations in France.	124
Figure 51 : Example of dose-responses of PCB 153 in adipose tissue of piglet receiving increasing amounts of NDL-PCBs spiked oil (oil-group), or contaminated and (A2 and E1-sample groups).	128
Figure 52 : Principal component analysis between RBA and each soil-characteristic.	128
Figure 53: Correlations between soil characteristics.....	131
Figure 54: Relation entre les biodisponibilités relatives retrouvées après exposition des porcelets à des sols historiquement contaminés et la capacité de fugacité du sol telle que définie par Mackay (James <i>et al.</i> , 2011 ; Mackay, 1982).	136
Figure 55 : Comparaison des biodisponibilités relatives retrouvées après exposition des porcelets à des sols historiquement contaminés aux PCB (présente étude) et aux HAP (James <i>et al.</i> , 2011) et la capacité de fugacité de l'eau telle que définie par Mackay (James <i>et al.</i> , 2011 ; Mackay, 1982).....	136
Figure 56: Approche mécanistique de la rétention et de la biodisponibilité des PCB-NDL lors de la digestion.....	140

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principales expositions associées aux PCB ayant eu une répercussion médiatique.	6
Tableau 2 : Caractéristiques physiques des PCB-NDL	8
Tableau 3: Définitions cadrant la biodisponibilité et reprises dans la norme NF ISO 17402:2008.	18
Tableau 4 : Biodisponibilité des POP (PCB, HAP, PCDD/F) utilisant des modèles animaux.....	23
Tableau 5 : Flux et concentration en sels biliaries suivant l'espèce considérée.	24
Tableau 6 : pH relevé sur les différentes portions du tube digestif suivant l'espèce considérée..	24
Tableau 7: Longueur anatomique absolue et relative des organes suivant l'espèce considérée.	24
Tableau 8 : Effet des cycles de séchage et réhydratation d'un sol sur la disponibilité de l'atrazine.	56
Tableau 9: Informations élémentaires concernant la sorption rapide, lente et très lente des contaminants sur les particules solides du sol.....	66
Tableau 10: Site de prélèvement des sols, historique de contamination connu et profil de sol.....	76
Tableau 11 : Caractéristiques des sols prélevés, sélection et identification.....	80
Tableau 12 : Parameters of the linear dose-response relationships between NDL-PCBs doses (ng.Kg BW ⁻¹ .d ⁻¹) and retrieved concentration in adipose, muscular and hepatic tissues (ng.g ⁻¹ of fat).	92
Tableau 13: Concentrations (ng.g ⁻¹ of fat) and relative bioavailability factors of NDL-PCBs in liver, muscle and adipose tissue.	94
Tableau 14: Composition of the different artificial soils and treatment of the experiment.....	106
Tableau 15: Relative bioavailability (RBA) factors of NDL-PCBs.	110
Tableau 16 : Formulation, description and contamination doses of exposure matrices in experimental dough balls.	118
Tableau 17 : Assessment of dose-response relationship, linear parameters and relative bioavailability (RBA) factors.....	126
Tableau 18 : Correlation matrix as calculated during PCA analysis (Pearson coefficients).	132
Tableau 19 : Comparaison de l'exposition aux PCB par voie alimentaire et par ingestion involontaire de sol suivant les scénarios retenus.	142

LISTE DES ABREVIATIONS

AC: <i>Activated carbon</i>	GC-MS: <i>Gas chromatography - mass spectrometry</i>
ADEME: Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie	HA: <i>Humic acid</i>
ADME: Absorption, Distribution, Métabolisation et excrétion	HAP: Hydrocarbure aromatique polycyclique
AFNOR: Association Française de Normalisation	HCB: Hexachlorobenzene
AhR: <i>Aryl hydrocarbon receptor</i>	INRA: Institut National de la Recherche Agronomique
ANSES: Agence nationale de sécurité sanitaire	IRMM: <i>Institute for Reference Materials and Measurement</i>
ASE: <i>Accelerated Solvent Extraction</i>	ISO: <i>International Organization for Standardization</i>
ASTM: <i>American Society for Testing and Materials</i>	IVG: <i>in vitro gastrointestinal extraction method</i>
ATSDR: <i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>	K_{oc} : Coefficient de partition carbone organique/eau
AUC: <i>Area Under the Curve</i> - Aire sous la courbe	K_{ow} : Coefficient de partition octanol/eau
BARGE: <i>BioAvailability Research Group Europe</i>	l'US-EPA: United-States Environmental Protection Agency
BASIAS: Base de données inventoriant les activités industrielles (http://basias.brgm.fr/)	MEDDE: Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie
BASOL: Base de données inventoriant les sites et sols pollués en France (basol.developpement-durable.gouv.fr/)	MS: Matière sèche
BCR: Bureau Communautaire de Référence	NEPI: <i>National Environmental Policy Institute</i>
CC10: <i>Clara Cell 10 kDa protein</i>	NRC: <i>National Research Council</i>
C_{org} : Carbone organique	OC: <i>Organic carbon</i>
CYP: Cytochrome P450	OCDE: Organisation de Coopération et de Développement Economique
DDT: dichlorodiphényltrichloroethane	OM: <i>Organic matter</i>
DJA: Dose Journalière Admissible	OMS: Organisation Mondiale de la Santé
DMM: <i>Dual-Mode sorption Model</i>	PBET: <i>Physiologically based extraction test</i>
DRM: <i>distributed Reactivity Model</i>	PCB DL: <i>PCB dioxin-like</i>
EAT: Etudes d'Alimentation Totale	PCBi: Polychlorobiphényles indicateurs
EQRS: Evaluation Quantitative de Risque Sanitaire	PCB-NDL: Polychlorobiphényles <i>non-dioxin-like</i>
FA: <i>Fulvic acid</i>	PCB-PB: <i>PCB Protein-Binding</i>
	PCDD/F: polychlorinated dibenzodioxins

PNUE: Programme des Nations Unies sur
l'Environnement
POM: polyoxyméthylène
POP: Polluant Organique Persistant
RBA: *Relative bioavailability*
RMSE: *Root Means Square Error*
SBRC: *Solubility Bioaccessibility Research
Consortium*
SD: *Standard deviation*
SE: *Standard error*
SS: *Standard soil*

TCB: 1,3,5-trichlorobenzene
TEF: facteurs d'équivalent toxique
TEQ: Quantité d'équivalent toxique
TIM: *TNO intestinal model*
TNB: 1,3,5-trinitrobenzene
TNO: *Netherlands Organisation for Applied
Scientific Research*
TOC: Carbone Organique Total
UBM: *Unified BARGE Method*
VLDL: *Very low-density lipoprotein*
WHO: *World Health Organisation*

Introduction Générale

La prise de conscience de l'impact des activités humaines sur l'environnement, notamment sur le sol, fait l'objet d'investigations croissantes, mais elle intervient, toutefois, tardivement au regard du début de l'ère industrielle. L'évaluation de l'impact sanitaire engendrée par la production l'est tout autant. Les Polychlorobiphényles (PCB) en sont une manifestation patente. Appréhendés comme des molécules d'intérêt, produites massivement, leur danger n'a été mis au jour que bien plus tard suite à des crises sanitaires majeures. Les PCB sont non seulement toxiques mais également persistants dans l'environnement. La France a été un important pays producteur et utilisateur de PCB. Du fait de leur faible dégradation et de leur rétention par le sol, ce dernier constitue un réservoir pour ces contaminants. Ainsi, de nombreux sites pollués aux PCB sont recensés en France (MEDDE, [s.d.]). Un site pollué s'apparente à un site présentant des concentrations en polluants susceptibles d'engendrer un effet négatif pour l'Homme (MEDDE, [s.d.]).

Cette étude s'emploie à estimer la biodisponibilité des PCB *non dioxin like* (PCB-NDL) au sein de sols contrastés afin de déterminer leur incidence sur l'exposition orale de l'enfant.

A défaut de pouvoir supprimer ce danger, il est nécessaire de déterminer quelle est la gestion appropriée pour limiter le risque associé. Ainsi, l'évaluation quantitative de risque sanitaire (EQRS) apparaît comme particulièrement utile et pertinente. Durant cette démarche, les voies d'exposition sont identifiées, et pour chacune d'entre elles, le risque est évalué. Les jeunes enfants (1-3 ans) représentent une population cible particulière pour deux raisons :

- une exposition *via* l'ingestion de sol et de poussières (comportement exploratoire et portage des mains à la bouche)
- une sensibilité particulière vis-à-vis du risque chimique du fait de barrières immatures et de sa phase de développement notamment du système nerveux central, organe particulièrement ciblé par les PCB.

Au regard des données connues, la pertinence du choix de cette population cible et de l'exposition par ingestion de sol sera soulignée dans la partie 1 de la synthèse bibliographique. Cette partie permettra, de même, de montrer qu'actuellement l'évaluation de la fraction des contaminants entrant dans l'organisme, est une donnée manquante dans l'EQRS.

Afin de quantifier cette fraction, la mesure de la biodisponibilité des PCB apparaît comme un paramètre de première importance. L'étendue de ce concept sera tout d'abord exposée dans la partie 2 de la synthèse bibliographique, ainsi que les différents moyens de mesure disponibles. Cette partie permettra de souligner l'importance des manipulations *in vivo* pour appréhender l'ensemble des étapes couvrant la biodisponibilité. De même l'intérêt éthique de méthodes *in vitro* de substitution sera développé tout en définissant les conditions qu'une telle méthodologie se doit de remplir.

L'intérêt de ces méthodes en termes d'évaluation de risques (*i.e.* méthodes *in vitro* et *in vivo* de détermination de la biodisponibilité) repose sur le lien entre la dose d'exposition et le danger, un effet indésirable

pouvant s'exprimer dans des tissus de l'organisme. Le devenir des PCB au sein de l'organisme sera développé dans la partie 3 de la synthèse bibliographique.

Le sol, élément complexe à appréhender peut retenir différemment les polluants organiques en fonction de ses caractéristiques. La partie 4 de la synthèse bibliographique détaillera les mécanismes et les caractéristiques du sol pouvant influencer sur la rétention des PCB.

À l'issue du travail de bibliographie, il est apparu que l'utilisation du modèle porcelet dans l'évaluation de la biodisponibilité relative apparaît comme la plus pertinente dans le cadre de l'évaluation des risques relative à l'ingestion involontaire de sols contaminés par les PCB-NDL. Cette démarche sera exposée dans la partie ayant trait à l'orientation des travaux de thèse.

L'ensemble des sites sur lesquels les sols de l'étude ont été prélevés seront, ensuite, présentés. Les parties suivantes de ce travail de thèse développeront les volets expérimentaux. La première partie consistera en une étude de la faisabilité et procédera à la validation des paramètres nécessaires à l'utilisation de la biodisponibilité relative comme outil d'évaluation de l'exposition : la linéarité de la dose-réponse et le choix des tissus-cibles. La deuxième partie se focalisera sur l'impact de la qualité de la matière organique du sol sur la rétention des PCB lors des processus digestifs. La troisième se basera sur un panel de 10 sols prélevés sur des sites contaminés et choisis parmi 20 sols pour leurs caractéristiques contrastées.

Enfin, la discussion générale détaillera l'impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité et son apport potentiel en évaluation des risques sanitaires.

1

Synthèse Bibliographique

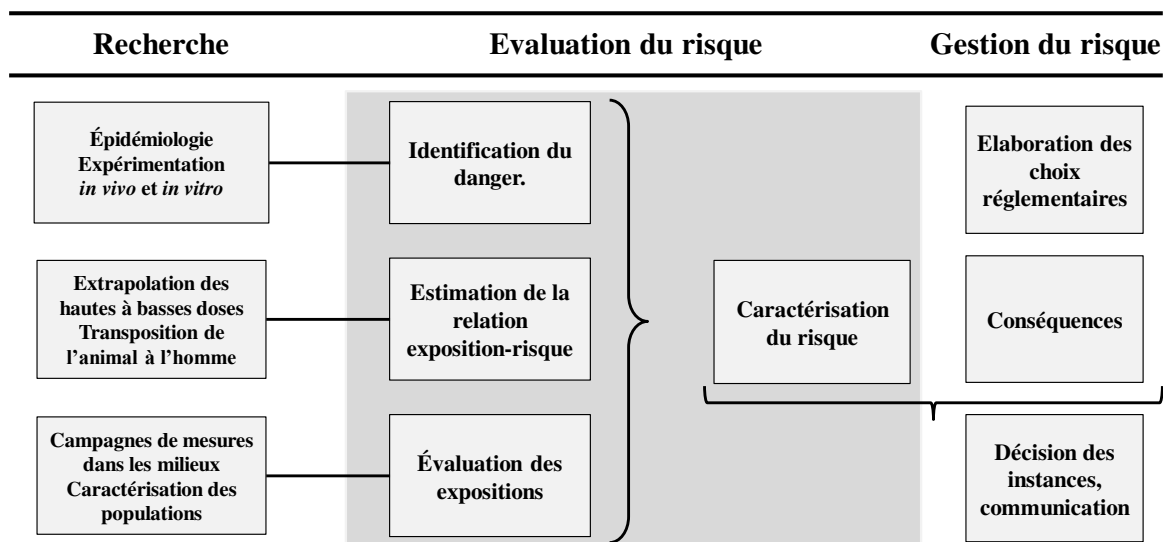


Figure 1 : Place de l'évaluation des risques au sein de la démarche globale aboutissant à la gestion du risque
D'après : (NRC, 2003)

Date et Lieu	Historique des principales expositions et conséquences aux PCB
1968 (Japon)	Suite à une fuite d'un échangeur de chaleur dans une industrie fabriquant de l'huile de riz (Yusho) des Japonais sont exposés. Il s'agit de la première exposition de masse d'une population (plus de 14 000). Plusieurs signes cliniques notamment une importante chloracnée est rapportée.
1979 (Taiwan)	De nouveau de l'huile de riz (Yucheng) contaminée est mise en cause dans une exposition de masse de Chinois. Environ 2000 personnes sont concernées.
1981 (USA)	Suite à un incendie une tour contenant des bureaux est contaminée par des PCB. Le site devra être décontaminé.
1999 (Belgique)	Épisode du poulet dit « à la dioxine » dû à l'utilisation d'aliments pour animaux contaminés à des niveaux 140 fois supérieurs aux limites fixées concernant les PCB.
2008 (France)	Incendie sur un site ayant le statut de sol pollué (Saint-Cyprien). Après 2 mois d'incendie 1992 bovins et 83 ovins ont dû être abattus.
2011 (France)	En Mayenne, une usine de retraitement de déchets à Grez-en-bouère rejette des PCB au-dessus des normes. Plus de 200 bovins ont été abattus.



Figure 2: Episode de Yusho : prise de conscience de la dangerosité associée au PCB.

Source : (Urabe et Asahi, 1985)

Tableau 1 : Principales expositions associées aux PCB ayant eu une répercussion médiatique

Sources : (Wennig, 2008)

PARTIE 1:**Les PCB : identification du danger, évaluation des risques et aspects réglementaires.**

Cette première partie identifie et caractérise les dangers et les risques posés par les sols contaminés par les PCB. Après une reprise générale de la démarche de l'évaluation des risques, le danger que représentent les PCB, le risque associé pour l'enfant et les mesures actuelles de protection seront détaillés.

1. L'évaluation des risques liés aux contaminants environnementaux : approche méthodologique

L'évaluation des risques posés par les contaminations environnementales reprend un schéma général partagé par la plupart des agences d'évaluation des risques et qui comprend 4 étapes majeures (NRC, 2003) (cf. Figure 1) :

L'identification du danger : on entend par danger tout effet néfaste et non désiré pour une population donnée. Cet effet sanitaire devra être défini et détaillé tout comme l'intensité de sa manifestation. Sa survenue voir l'intensité de son impact dépend du niveau et de la durée d'exposition mais aussi de facteurs de prédisposition de l'organisme. L'identification de ce danger peut résulter de plusieurs méthodes d'identification. L'épidémiologie permet ainsi de relier un effet biologique observé *a posteriori* sur une population après identification d'une exposition. La recherche toxicologique, quant à elle, permet une caractérisation d'effets néfastes à l'échelle moléculaire, cellulaire, tissulaire et de l'organisme. L'identification complète passe, ainsi, par la caractérisation (1) des effets négatifs (2) des cibles biologiques.

Identification de l'exposition : cette étape estime l'intensité potentielle de l'exposition humaine à un contaminant. La fréquence, sa durée et la voie d'exposition sont identifiées.

La détermination de la relation dose-réponse : Il s'agit de la relation liant la dose de contamination et le risque de survenue d'un effet sanitaire préalablement déterminé. Des valeurs de références issues d'expérimentations toxicologiques sur animaux sont alors évaluées. La biodisponibilité d'un contaminant, déterminant la fraction d'un contaminant entrant dans l'organisme apparaît déterminante pour appréhender la fraction présentant potentiellement un risque pour l'individu. Ce concept sera détaillé largement en partie 2 de cette synthèse bibliographique.

Caractérisation du risque : un retour sur les connaissances acquises est effectué et un travail d'expertise est mené pour caractériser le risque et les populations concernées.

Cette démarche permet de répondre aux inquiétudes du public concernant les contaminants en raisonnant l'analyse de risque. Cette attente est d'autant plus forte que d'importants épisodes de contamination médiatisés ont mis en lumière (1) la dangerosité et (2) l'importance des contaminations aux PCB (cf. Figure 2, Tableau 1).

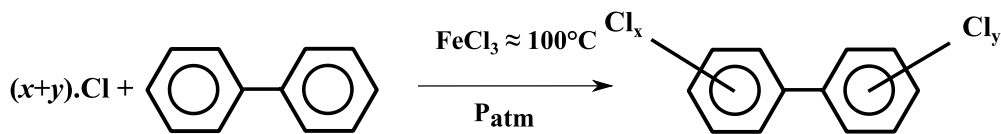


Figure 3 : Synthèse des PCB et formule générale

D'après : (ATSDR, 2000)

	Log K_{ow}	Log K_{oc}	Log S_{WL} ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$)	P_L (Pa)	Log H ($\text{Pa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$)
PCB 28	5,66 ^a	5,31 ^b	-1147/(T) + 10,79 ^a	-1147/(T) + 0,79 ^a	-2860/(T) + 11,08 ^a
PCB 52	5,91 ^a	5,91 ^b	-1103/(T) + 0,37 ^a	-4059/(T) + 11,69 ^a	-2956/(T) + 11,32 ^a
PCB 101	6,33 ^a	6,14 ^b	-1113/(T) - 0,27 ^a	-4346/(T) + 11,94 ^a	-3233/(T) + 12,21 ^a
PCB 138	7,22 ^a	6,49 ^b	-1437/(T) + 0,093 ^a	-4770/(T) + 12,75 ^a	-3332/(T) + 12,66 ^a
PCB 153	6,87 ^a	6,57 ^b	-1305/(T) - 0,14 ^a	-4712/(T) + 12,59 ^a	-3407/(T) + 12,72 ^a
PCB 180	7,16 ^a	6,92 ^b	-1356/(T) - 0,33 ^a	-4809/(T) + 12,16 ^a	-3453/(T) + 12,49 ^a

Tableau 2 : Caractéristiques physiques des PCB-NDL

- K_{ow} : Coefficient de partition octanol/eau
- K_{oc} : Coefficient de partition sur le carbone organique/eau
- S_{WL} : Solubilité aqueuse.
- P_L : Pression de vapeur
- H : Constante de Henry
- T : Température en Kelvin

Source : ^a : (N. Li *et al.*, 2003)
^b : (Burkhard, 1984)

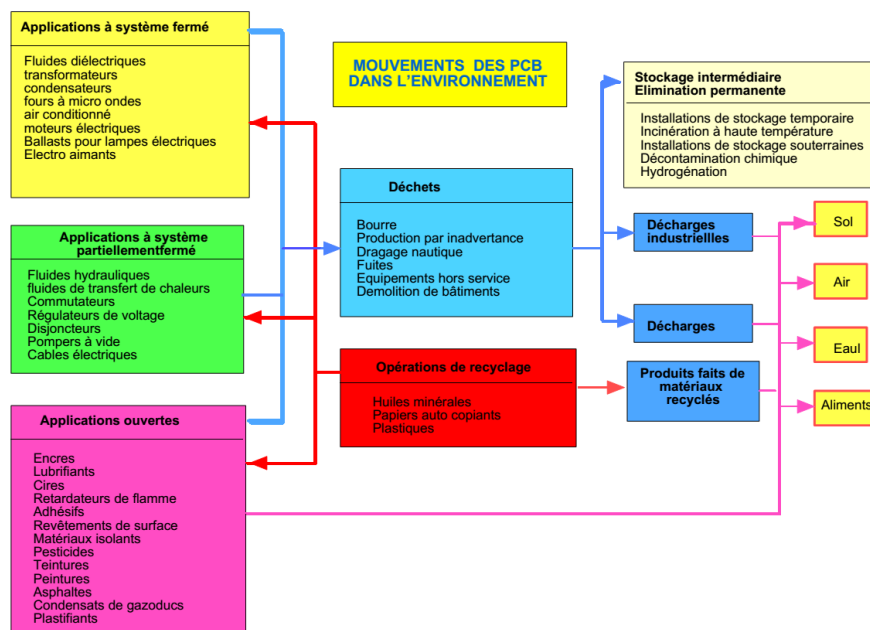


Figure 4 : Les sources industrielles de PCB et applications

Source : (PNUE, 2002)

2. Les PCB et leur production

a. Formule et nomenclature des PCB

La famille des PCB comprend 209 congénères se distinguant par le nombre d'atomes de chlore fixés sur la molécule et par leur position sur le noyau biphényle (*cf.* Figure 3). Du fait de leur abondance dans les matrices environnementales et de leurs différents modes d'action, des groupes d'intérêt ont été distingués. Ainsi les 7 PCB indicateurs (PCBi) (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 138, PCB 153 et PCB 180), les 6 PCB *non-dioxin-like* (PCB-NDL), correspondant aux 7 PCBi à l'exclusion du PCB 118 (PCB *dioxin-like*), (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 et PCB 180) ainsi que les 12 PCB *dioxin-like* (PCB-DL)

b. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des PCB *non-dioxin-like* (PCB-NDL), majoritaires dans l'environnement sont résumées dans le Tableau 2. Les PCB sont des composés semi-volatils, lipophiles et persistants. La stabilité des PCB augmente avec le nombre d'atomes de chlore présents sur la molécule.

c. Données de production et d'utilisation

Les PCB sont des molécules d'origine anthropique exclusive. Leur production industrielle et leur large distribution font que les sources de contamination ne peuvent être appréhendées d'une façon exhaustive. Produits industriellement dès 1929 aux États-Unis, ces composés ont été largement produits et employés du fait de leurs qualités isolantes et ignifugeantes. Des données parcellaires distinguent un maximum de production en 1970 aux États-Unis (38 000 tonnes sur un an) (Breivik *et al.*, 2002 ; De Voogt et Brinkman, 1989). La quantité totale de PCB produite par l'Homme se compterait quant à elle en millions de tonnes, une estimation porte à 1,5 millions de tonnes la quantité de PCB produite dans le monde (hors ex-URSS) (Breivik *et al.*, 2002 ; De Voogt et Brinkman, 1989). Les mélanges de PCB ont été commercialisés sous plusieurs dénominations, certains passant dans le langage commun comme le « pyralène » (Prodelec, France) ou l'« Aroclor » (Monsanto, USA). Toutefois les mélanges techniques commercialisés possédaient des profils (concentrations relatives d'un congénère par rapport à un autre) présentant différents degrés de chloration.

Concernant les usages, les modes d'utilisation doivent être discernés pour appréhender les potentialités de contamination de l'environnement. Ainsi, les PCB ont été employés en système dispersif en tant qu'additif dans les encres, les papiers, les textiles, etc... mais également dans des systèmes semi-ouverts comme les fluides hydrauliques et les fluides calorifères. Enfin les PCB ont été utilisés dans des systèmes fermés comme les condensateurs et transformateurs. Ces systèmes fermés peuvent contenir jusqu'à plusieurs kilogrammes de PCB par dispositif (*cf.* Figure 4).

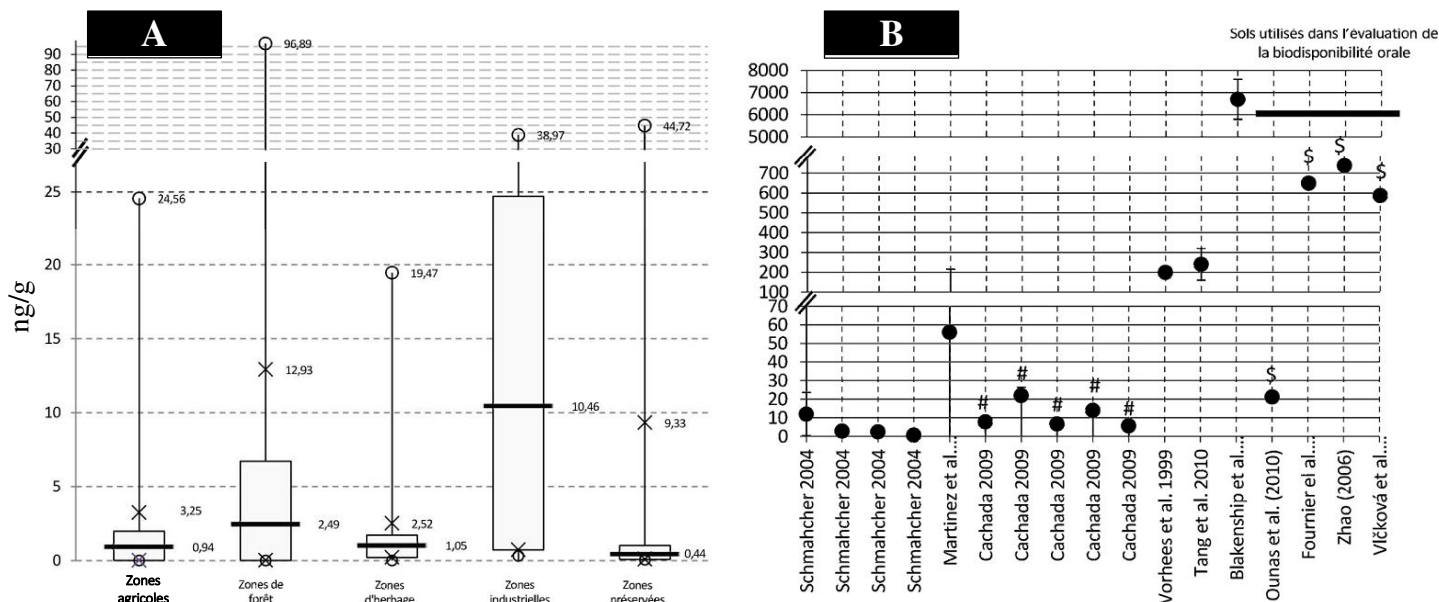


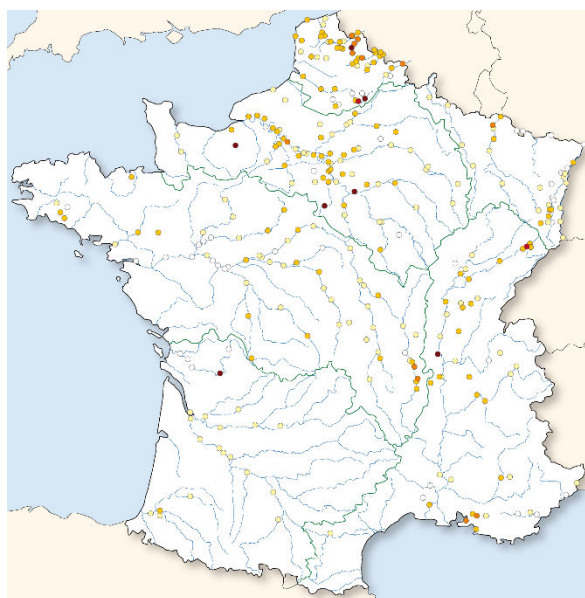
Figure 5 : Niveaux de concentrations en PCB totaux rencontrés dans les sols d’après la littérature : niveaux environnementaux usuellement rencontrés (A) et lors d’un historique de contamination connu (B).

A- Répartition des concentrations en PCB totaux usuellement rencontrées suivant l’utilisation des sols étudiés (sources bibliographiques).

Les données sont exprimées en $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. Les croix (x) représentent les déciles des concentrations, les ronds (o) représentent les minima et maxima des valeurs relevées. La boîte représente les valeurs comprises entre les quartiles, les traits pleins représentent les médianes (U.S. EPA 2007 ; Meijer *et al.* 2003 ; Lead *et al.* 1997). Les prélèvements de ces sols n’ont pas été réalisés dans des zones connues pour leur historique de contamination.

B- Niveaux de contaminations retrouvés dans la littérature lors d’un contexte de contamination connu.

Les points représentent les moyennes géométriques et les barres d’erreur, les erreurs standards. Les niveaux de contamination relevés sont exprimés en $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$. (#): moyennes géométriques non disponibles, les résultats présentés sont les valeurs médianes les minimum et maximum indiqués par les barres d’erreur. (\$) Ecart type non disponible.



- Pas de mesure (45)
- <11 (123)
- 11 à 140 (106)
- 140 à 270 (12)
- 270 à 400 (2)
- >400 (7)

Figure 6 : Concentrations dans les sédiments ($\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$).
Source : (Agence de l’eau, ONEMA 2014)

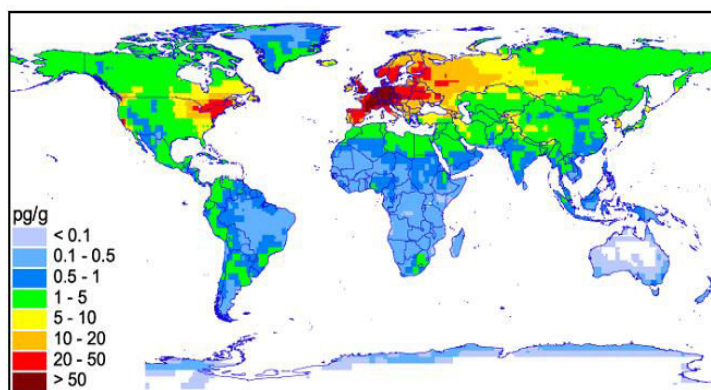


Figure 7 : Concentrations dans les sols du PCB 153 à l’échelle du monde.

Données issues d’une modélisation.

Source : (Shatalov *et al.* 2014)

À ce jour, la production en PCB est nulle à l'échelle française et européenne en raison de la réglementation restrictive. Sans pouvoir le confirmer, cette tendance semble suivie mondialement.

3. Les PCB et l'environnement

Du fait de leur production importante et de leur utilisation sur l'ensemble des continents, ces composés sont ubiquitaires (cf. Figure 5 à 7). Leurs propriétés physico-chimiques les PCB font qu'ils peuvent être retrouvés dans l'ensemble des compartiments terrestres : l'air, l'eau, le sol et la biomasse. Toutefois selon leur degré de chloration leur devenir peut différer. Ainsi les congénères présentant 1 à 3 atomes de chlore pourront être dégradés rapidement tandis que les plus chlorés auront une demi-vie de plusieurs années. Du fait de leur K_{ow} élevé, ces composés sont peu solubles en milieu aqueux. Lors de leur déversement sur le sol, ces derniers persistent, du fait de leur faible mobilité (lixiviation faible) (HSDB, 2010). Ainsi, les PCB pourraient rester dans les premiers centimètres d'un sol contaminé pendant près de 10 ans (McLachlan, Czub, et Wania, 2002).

Afin d'appréhender les doses pouvant être retrouvées usuellement dans le sol, une analyse des données fournies par l'US-EPA (2007), Meijer *et al.* (2003) et Lead *et al.* (1997) a été réalisée (cf. Figure 5). Cette analyse des données brutes a permis de présenter les niveaux de contamination retrouvés suivant l'utilisation du sol. On observe une contamination moyenne globalement plus importante dans les zones industrielles avec des contaminations variant de 0 et 25 ng.g⁻¹ de matière sèche (MS) de sol. (9 sols industriels (cf. Figure 7 A) (Lead *et al.*, 1997 ; Meijer *et al.*, 2003 ; U.S. EPA, 2007a).

D'autres publications relèvent des niveaux bien plus importants dans les zones fortement contaminées. Les sols peuvent atteindre de manière exceptionnelle des niveaux de contamination de 6 500 ng de PCB totaux par g de M.S. (Blankenship *et al.*, 2005), ou 709 ng de PCB_i par gramme de M.S (Fournier *et al.*, 2012) (cf. Figure 5 A et B).

Ainsi, les PCB sont ubiquitaires et le sol apparaît comme un compartiment réservoir. Si généralement la concentration en PCB est faible, des sites particulièrement contaminés présentent des concentrations très élevées.

4. Le danger sanitaire que constituent les PCB : différences entre PCB DL et ND

De nombreuses agences d'évaluation des risques ont identifié les principaux dangers causés par les PCB. Une synthèse relativement exhaustive peut être trouvée auprès de l'*Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR, 2000). De façon concise on retiendra que les PCB ont des effets toxiques multiples. Toutefois deux familles possédant des caractéristiques toxiques différentes peuvent être distinguées pour les PCB : les *dioxin like* et les *non dioxin like*.

Les *dioxin like* présentent des propriétés toxicologiques et des mécanismes toxicologiques similaires aux dioxines ou polychlorodibenzo-p-dioxines (PCDD). Une cible biologique commune peut ainsi être identifiée : le récepteur AhR (*Aryl hydrocarbon receptor*). Suivant l'affinité des molécules à ce récepteur

des facteurs d'équivalent toxique (TEF) sont estimés (Van den Berg *et al.*, 2006). La toxicité du mélange, exprimée en quantité d'équivalent toxique (TEQ), est égale à la somme des produits des concentrations de PCB avec leur TEF, soit : $\sum_{i=1}^n [PCB]_i \cdot TEF_i$.

Outre ces propriétés toxicologiques proche des dioxines, les PCB présentent des toxicités ciblant plusieurs organes: le foie, le système endocrinien, le système immunitaire, le cerveau. De façon plus annexe on retrouve des toxicités oculaires, dermatologiques, cardiologiques, rénales et gastro-intestinales (ATSDR, 2000).

Si la toxicité des PCB en tant que perturbateur endocrinien est largement documentée, les effets indésirables touchant le cerveau ont fait l'objet ces dernières années d'un intérêt et d'investigations accrus.

Ainsi l'impact majeur des PCB (PCB-NDL et PCB-DL) sur le neuro-développement aux travers d'études épidémiologiques a été souligné. Parmi les investigations effectuées il a pu être mis en évidence, entre autre :

- des réflexes déprimés ou rallongés (Lonky *et al.*, 1996)
- des retards de développements (Lonky *et al.*, 1996)
- des déficits de mémorisation (Jacobson *et al.*, 1992)
- une diminution du quotient intellectuel (Jacob *et al.*, 1996)
- des défauts d'apprentissage (Grandjean et Landrigan, 2006)

Chez les rats, après une exposition périnatale, des résultats similaires ont été obtenus (ATSDR, 2000 ; Corey *et al.*, 1996 ; Lilienthal *et al.*, 2011) et ce même à des doses faibles proches de celles environnementales (Elnar *et al.*, 2012). Certaines études montrent que les PCB-NDL, quantitativement majoritaires dans l'environnement, peuvent spécifiquement engendrer ce type d'effet (Boix, Cauli, et Felipo, 2010 ; Boix *et al.*, 2011).

En considérant que les PCB-NDL sont les plus présents (1) dans les sources de contamination l'environnement (2) dans l'environnement lui-même, ces congénères sont d'intérêt pour étudier le risque neurotoxique et neuro-développemental des PCB. Le neuro-développement étant un processus précoce en regard du développement de l'Homme, le jeune enfant (6 mois – 3 ans) apparaît comme une population particulièrement à risque concernant cet effet délétère.

5. Réglementation et protection de la population

Le danger et le risque sanitaire causés par les PCB ont été identifiés, avérés et caractérisés. Afin de protéger la population des réglementations à l'échelle internationale, européenne et de la France ont été statuées. Plusieurs jalons peuvent être discernés dans cette évolution :

- En février 1973 : l'OCDE recommande de limiter l'usage des PCB aux systèmes clos (C(73)1/Final). Cette limitation est effective en France dès juillet 1975 (arrêté du 8 juillet 1975).
- En 1989 : l'OCDE interdit toute vente et utilisation nouvelle des PCB. En France, la vente de produit contenant des PCB est interdite et une identification des produits contaminés doit être réalisée.

- En 1990 : La France se dote d'outils d'inventaire d'activité industrielle (BASIAS) et de sols pollués (BASOL). Ces outils ont depuis été continuellement mis à jour.
- En 2001 : un inventaire des équipements contenant des PCB est réalisé en France. Cet inventaire mène à un plan de décontamination et élimination des appareils répertoriés.
- En 2002 : L'Europe fixe les limites dans les denrées alimentaires pour les PCB de type dioxine. Cette réglementation sera reprise en 2006 (n° 1881/2006) qui sera amendée en 2011 (n°1259/2011) en intégrant les PCB *non-dioxin-like* (PCB 28, 52, 101, 138, 153 et 180) (European Commission, 2011 ; European Commission, 2006)

Des normes concernant les limites d'exposition ont également été fixées : L'OMS a fixé à 3ng/m³ la qualité de l'air en concentration journalière admissible. De même, des normes de qualité environnementale ont été édictées (circulaire du 7 mai 2007) : Elle définit les valeurs seuils pour différentes matrices comme les eaux (sous-terraines et de surface), les éléments épandus et les sédiments.

Il n'y a actuellement aucune valeur seuil réglementaire concernant le sol. Une évaluation des risques par sites est ainsi réalisée pour déterminer les actions à effectuer pour chaque site contaminé. Une première étape d'analyse consiste en la caractérisation de la contamination (spatiale sur le site) et leur confrontation aux valeurs toxicologiques de références (soit une Dose Journalière Admissible (DJA) de 2.10⁻⁵ mg/Kg/j pour les PCB) suivant les voies d'exposition et les cibles possibles (ATSDR, 2000 ; WHO, 2003).

Pour l'ingestion de sol, cette comparaison de la concentration totale en PCB dans le sol considère que ce dernier n'a pas d'effet sur l'absorption des PCB et, *de facto*, que l'absorption est maximale.

Ainsi il le calcul suivant est réalisé:

$$DJE_{ing} = C \times \frac{Q}{P} \times f_{a,ing} \times \frac{FE \times DE}{Tm}$$

DJE (mg/kg/j)	: mg de sol ingéré (MS) par kg de poids vif par jour
C (mg/kg)	: concentration totale de la substance toxique dans le sol
Q (kg/j)	: masse quotidienne de milieu consommé
$f_{a,ing}$: facteur d'absorption par ingestion
FE (j)	: nombre de jour d'exposition sur une année
DE (an)	: nombre d'année d'exposition
Tm	: nombre de jour couvrant la période d'exposition : - pour les effets avec seuil : 365 x DE - pour les effets sans seuil : 70 ans x 365

Ainsi en l'absence de données pour un site en particulier, le facteur d'absorption est fixé arbitrairement à 100%. Ce choix par défaut pourrait faire l'objet d'une surestimation du risque. Ainsi, dans le cadre des polluants métalliques il est avéré que seule une fraction de ces contaminants peut-être absorbée par l'Homme (Caboche, 2009 ; Denys *et al.*, 2012 ; NRC, 2003 ; U.S. EPA, 2007b) et que cette fraction varie fortement suivant le sol considéré.

L'absence de valeur seuil concernant la matrice sol est retrouvée dans la plupart des pays européens concernant les polluants organiques. Aux États-Unis, des études de biodisponibilité ont abouti à la détermination de valeurs réglementaires dans le sol pour certains contaminants organiques comme les HAP. Les états du Michigan et du Massachusetts ont ainsi déterminé des valeurs seuil dans des matrices environnementales telles que le sol de 90 ng.Kg⁻¹ et 200 ng.Kg⁻¹ respectivement. Ces limites ont été choisies suivant des niveaux de biodisponibilité trouvées dans des études *in vivo* (U.S. EPA, 2007c).

Face au risque que constitue la contamination aux PCB, des mesures de protection de la population ont été prises. (1) Une procédure de gestion des déchets contaminés a été mise en place. (2) Les sites contaminés ou qui pourraient potentiellement l'être ont été inventoriés. (3) Enfin, une gestion harmonisée des sites contaminés suivant les bases de l'évaluation quantitative des risques a été établie. La pression réglementaire s'est accrue ces 30 dernières années en réponse à l'inquiétude croissante de la population vis-à-vis du risque sanitaire. Dans cette démarche, et pour l'évaluation du risque posé par l'ingestion de sols contaminés, la détermination de la dose journalière d'exposition et sa comparaison à une valeur toxicologique de référence est nécessaire. Dans le cadre de cette évaluation l'absorption des contaminants du sol est définie arbitrairement comme maximale.

6. L'ingestion de sol par l'enfant

L'ingestion de sol et de poussières peut être une voie d'exposition du jeune enfant (U.S. EPA, 2011). Cette ingestion est à mettre en parallèle de son comportement exploratoire pouvant s'exprimer par la mise à la bouche de nombreux éléments comme ses mains ou des objets (U.S. EPA, 2011). Plusieurs études ont essayé de quantifier la dose journalière qu'un enfant peut ingérer. Pour cela des études épidémiologiques sur des cohortes ont été réalisées. Une des méthodologies employées pour retrouver la quantité de sol ingérée fut l'emploi d'éléments traceurs métalliques naturellement présents dans le sol.

Il faut toutefois considérer plusieurs types d'ingestion de sol, qui peut revêtir soit un caractère involontaire, soit refléter un comportement alimentaire qu'il soit pathologique ou non (U.S. EPA, 2011).

- **Ingestion involontaire de sol** : prise involontaire de sol pouvant résulter d'un comportement exploratoire, d'une mise à la bouche des mains, d'aliments mal lavés.
- **Pica** : pathologie comportementale impliquant l'ingestion régulière d'une quantité de sol relativement importante (1 à 5 g de sol par jour)
- **Géophagie** : prise volontaire de sol culturellement assimilée à une prise alimentaire.

Parmi les études, une grande variabilité de résultats a été obtenue. Une description exhaustive ayant abouti à des recommandations ont été réalisées par l'U.S. EPA (U.S. EPA, 2011). Il ressort de cette étude que pour des enfants n'étant pas connus pour leur géophagie ou pica, une tendance centrale de 100 mg par jour de sol et poussière (50 mg pour le sol seul) peut être retenue (Hogan *et al.*, 1998 ; U.S. EPA, 2011). Ces doses s'appliquent pour un enfant entre 1 et 6 ans (U.S. EPA, 2011). Les recommandations au 95^{ème} centile

correspondent à 200 mg par jour pour un enfant de 3 à 6 ans pour les sols et poussières (Calabrese *et al.*, 1997 ; Özkaynak *et al.*, 2011 ; U.S. EPA, 2011).

L'enfant par son comportement exploratoire peut être amené à ingérer du sol contaminé. Ce sol peut être, ainsi, une matrice d'exposition non négligeable. La détermination de la quantité de sol que peut ingérer un enfant est difficile à appréhender. Des études ont été réalisées mais sans consensus méthodologique et devant la difficulté de réalisation de ces travaux (menés sur l'enfant), les résultats sont difficilement comparables. Une ingestion de sol involontaire de 100 mg par jour chez l'enfant peut être considérée comme le plus sûre dans l'appréhension de l'ingestion involontaire de sol par ce dernier.

Résumé de la Partie 1 :

Les PCB, molécules d'origine anthropique et ubiquitaires, ont pour réservoir principal le sol et les sédiments du fait de leurs caractéristiques physico-chimiques. Les sols constituent un risque d'exposition pour l'Homme qui a été caractérisé. Parmi les effets délétères la toxicité neurologique et neuro-développementale fait l'objet d'une investigation grandissante. La cible de cet effet délétère apparaît être principalement le jeune enfant (1 à 6 ans). Ce dernier étant (1) particulièrement susceptible à ces effets toxicologiques (phase de croissance et développement du système nerveux) (2) potentiellement plus exposé que la population générale du fait de leur comportement exploratoire et que l'évitement de l'ingestion est difficilement réalisable. Ces différents éléments soulignent la prise en considération de l'exposition périnatale avec attention lors d'évaluation du risque sur des sites dont le sol est contaminé aux PCB. La quantité de sol (et de poussières) ingérée quotidiennement par l'enfant proposée dans l'EQRS est de 100 mg. En revanche, il apparaît que l'absorption n'est pas prise en compte dans la démarche d'évaluation quantitative de risque du fait de la quasi-absence de données sur l'impact du sol sur cette dernière. En l'état actuel, l'absorption sera fixée pour les PCB à 100% pouvant aboutir à une surestimation des risques. Il apparaît donc que l'exposition est le facteur limitant dans la démarche actuelle. Ces travaux s'efforceront à la caractériser et la quantifier.

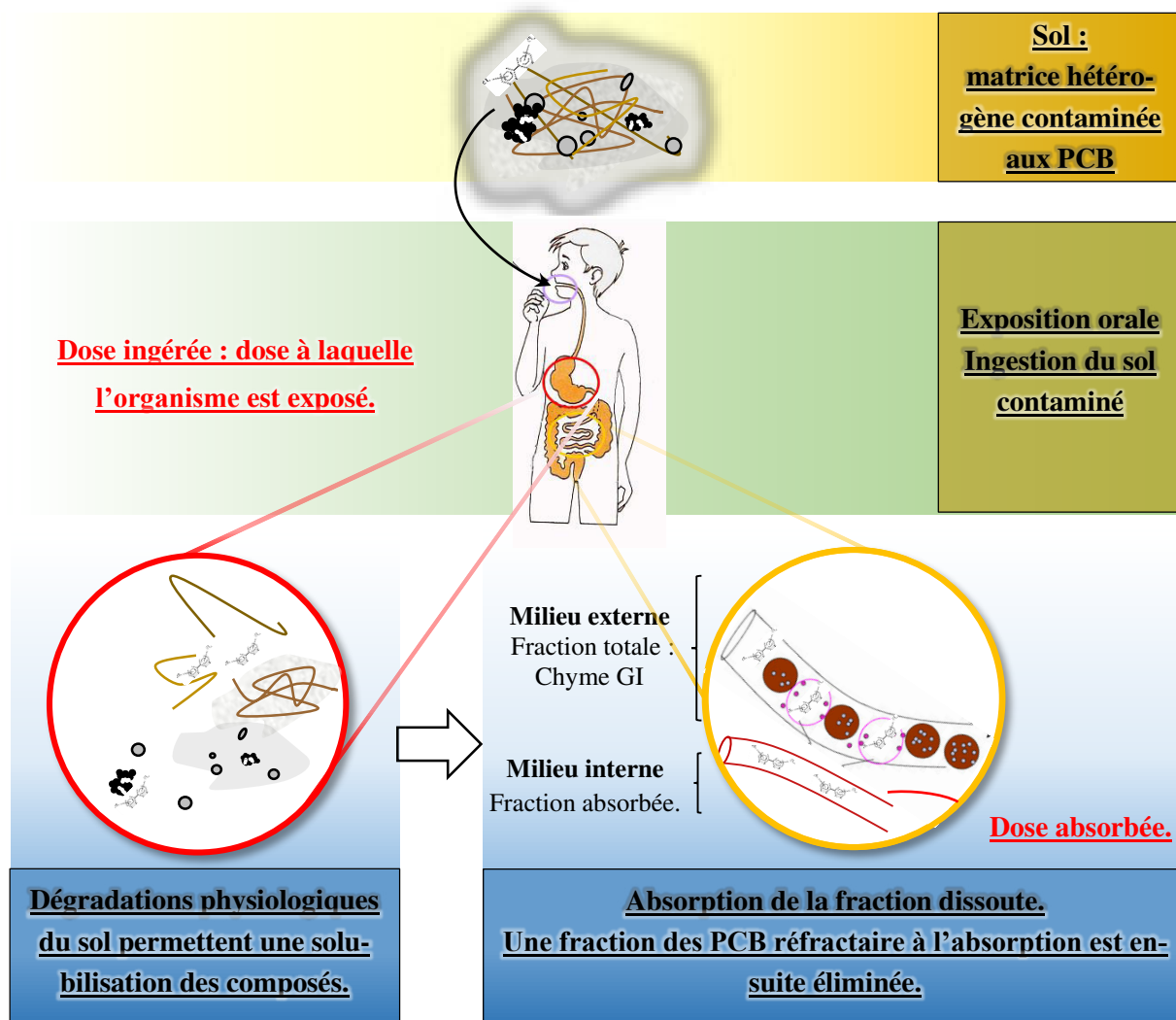


Figure 8 : Nécessité d'évaluer la fraction absorbée dans la démarche d'évaluation des risques
Place de la biodisponibilité dans l'évaluation de l'exposition à des contaminants organiques.
(GI=gastro-intestinal)

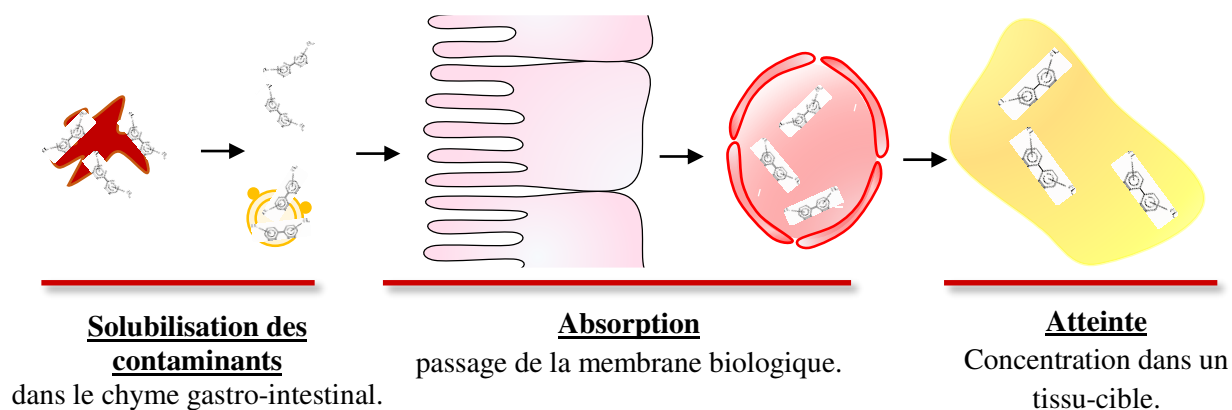


Figure 9 : Étapes de la biodisponibilité
Schématisation des étapes majeures à considérer lors de l'évaluation de l'exposition aux PCB contaminants les sols.

PARTIE 2:

Biodisponibilité orale et toxicocinétique des PCB : lien entre dose absorbée et réponse dans les organes cibles, description des méthodes d'évaluation

Ce deuxième chapitre présente un état des lieux des connaissances sur la biodisponibilité des PCB et leur devenir dans l'organisme après ingestion de sol contaminé. Il s'agira dans un premier temps de poser le concept de biodisponibilité et d'identifier et définir les différentes étapes qui séparent l'ingestion de sol contaminé par l'enfant à l'atteinte d'une cible biologique: l'organe ou tissu-cible. Ce chapitre développera également les méthodes d'évaluation de la biodisponibilité.

1. La notion de biodisponibilité

La biodisponibilité est un concept physiologique utilisé en pharmacologie et en toxicologie. Elle recoupe des notions de cinétique et de quantité pour un xénobiotique (contaminant) d'atteindre une cible biologique. Suivant l'objectif scientifique retenu, on pourra distinguer la biodisponibilité comme **la fraction d'un xénobiotique à atteindre sa cible biologique**, notion qui est retenue en pharmacologie, ou **la fraction atteignant un compartiment biologique**. Ainsi, Fries *et al.* 1989 définissent la biodisponibilité comme : **la fraction d'un composé administré qui est absorbée par un animal et qui peut être métabolisée, accumulée ou excrétée**¹. Concernant le domaine scientifique des polluants environnementaux, la biodisponibilité recoupe des étapes en amont de l'exposition des organismes aux contaminants. Ainsi le concept de biodisponibilité est élargi à la sorption et désorption des contaminants, renvoyant ainsi à la problématique de l'effet de la matrice environnementale sur la biodisponibilité.

La biodisponibilité de contaminants séquestrés dans les matrices environnementales résulte d'un transfert de la matrice le séquestrant à l'organisme ayant été exposé. Trois étapes apparaissent déterminantes dans le devenir du contaminant (*cf.* Figure 8 et 9):

- **la solubilisation du composé**, comprenant la désorption du contaminant de sa matrice d'origine et l'acquisition d'une forme potentiellement assimilable.
- **l'absorption du contaminant** par l'organisme comme passage des membranes biologiques séparant usuellement le milieu externe de l'interne (peau, muqueuse digestive, épithélium alvéolaire, ...).
- **l'atteinte de la cible biologique** par le contaminant et réalisation possible de l'effet biologique (accumulation, métabolisation, effet toxicologique, ...).

Ces différentes étapes sont reprises dans les définitions développées dans la norme NF ISO 17 402:2008. Cette norme a pour objectif de définir les « lignes directrices pour la sélection et l'application des méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans le sol et les matériaux du sol » (Tableau 1).

¹ «*bioavailability is defined as the fraction of an administered compound that is absorbed by an animal where it may be metabolized, stored or excreted*» (Fries *et al.* 1989)

Biodisponibilité	« Degré auquel des substances chimiques présentes dans le sol peuvent être absorbées ou métabolisées par un récepteur humain ou écologique, ou être disponibles pour une interaction avec les systèmes biologiques. »
Disponibilité environnementale	« Fraction du contaminant potentiellement disponible pour des organismes et qui résulte de processus physico-chimiques de désorption. »
Biodisponibilité environnementale	« Fraction du composé environnementalement disponible qu'un organisme absorbe par des processus physiologiques »
Biodisponibilité toxicologique	« Concentration interne accumulée et/ou liée à un effet toxique. »

Tableau 3: Définitions cadrant la biodisponibilité et reprises dans la norme NF ISO 17402:2008

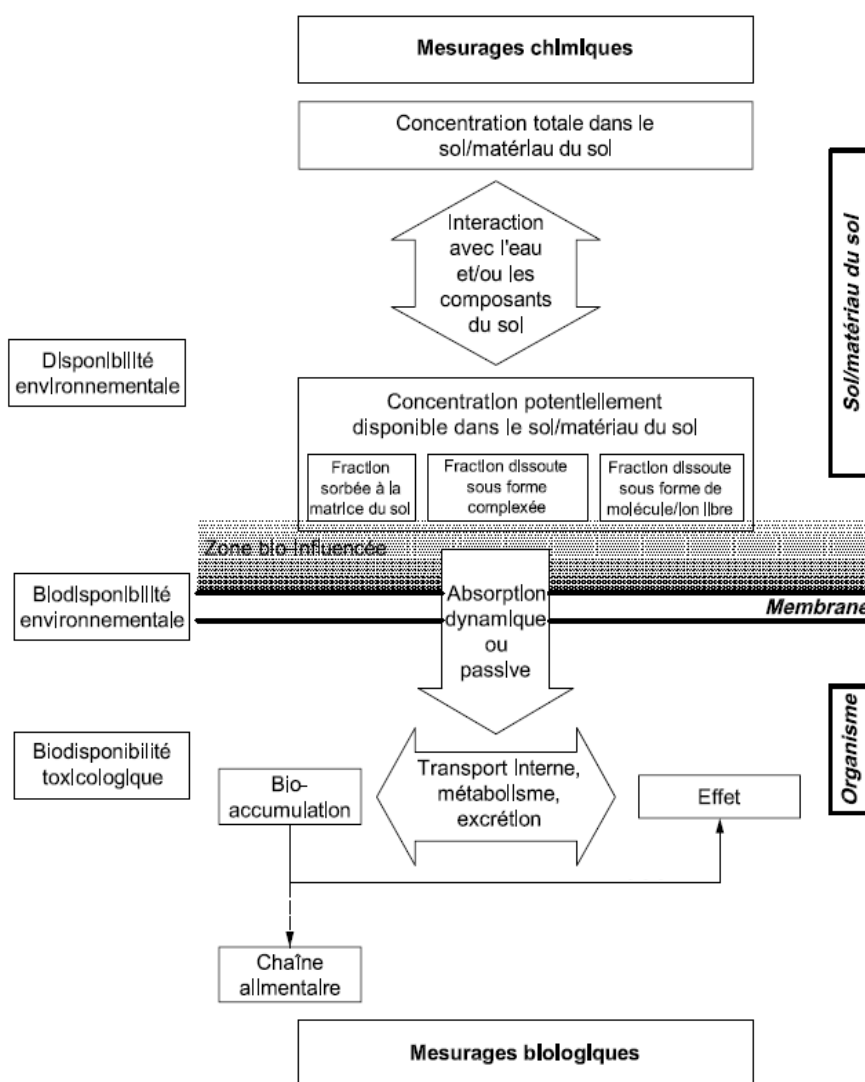


Figure 10: Etapes et niveaux d'analyse associés à la définition de la biodisponibilité d'un contaminant du sol

(source : NF ISO 17402:2008)

La notion de biodisponibilité s'appuie sur la différence entre la dose « d'exposition » (dose à laquelle est exposé l'organisme, comme la dose ingérée, respirée...) et la dose « internalisée » (pénétrant dans l'organisme). L'évènement discriminant ces deux doses est le franchissement d'une membrane biologique limitant un milieu extérieur (air, chyme gastro-intestinal...) du milieu interne de l'organisme (cf. Figure 10).

La mesure de la biodisponibilité dite « toxicologique » (cf. Tableau 3) reposera, ainsi, sur la quantification d'un effet (toxicologique ou accumulation au sein d'une cible) après exposition. D'autres études de biodisponibilité peuvent être entreprises sur des étapes en amont. Ainsi la détermination de la « disponibilité environnementale » s'appliquera à déterminer par des tests physico-chimiques sur la matrice d'exposition la portion de contaminants pouvant être assimilée par un organisme. La « biodisponibilité environnementale » s'appliquera à quantifier la portion pouvant être absorbée par l'organisme à partir de tests **basés sur la physiologie de l'organisme étudié**. Ainsi des tests *in vivo* peuvent être utilisés pour déterminer cette biodisponibilité environnementale tout comme des tests *in vitro* basés sur la physiologie de l'animal. Ces derniers essaient de se rapprocher des conditions physiques (température et mouvement) et électrochimique (pH, composition chimique et enzymatique du chyme gastro-intestinal) rencontrées lors de la digestion. Leur objectif étant de déterminer la fraction pouvant être accessible à l'absorption, ces tests sont dits de « bioaccessibilité ».

Au-delà des définitions recoupant la biodisponibilité il est également important de considérer la méthode de mesure de la biodisponibilité. Ainsi, il convient de distinguer la **biodisponibilité absolue** de la **biodisponibilité relative**. Dans le premier cas, la biodisponibilité absolue est issue de la comparaison directe entre la fraction biodisponible et la dose d'exposition. Dans le deuxième cas, la fraction biodisponible issue d'une matrice d'exposition est comparée à celle obtenue après exposition à une forme de référence. On peut ainsi définir la biodisponibilité absolue comme « *la fraction de la dose de polluants organiques persistants issue d'une matrice d'étude ingérée qui à partir du tractus gastro-intestinal, de la peau ou de poumons, atteint la circulation systémique* » (NEPI, 2000). La biodisponibilité relative est quant à elle définie comme « *la comparaison de la biodisponibilité des polluants présents dans une matrice d'étude par rapport à une matrice de référence ayant les mêmes concentrations de polluants organiques persistants que la matrice étudiée* » (NEPI, 2000).

En synthèse, on soulignera l'importance dans la définition de la biodisponibilité d'une dualité entre le composé étudié (le Xénobiotique et les caractéristiques de l'exposition) et une cible biologique. La biodisponibilité est un processus biologique complexe pouvant être séparée en plusieurs étapes successives : (1) la disponibilité environnementale correspondant à la dose potentiellement assimilable, (2) l'absorption du contaminant qui correspond à la biodisponibilité environnementale, (3) l'effet dans l'organisme qui correspond à la biodisponibilité toxicologique.

Les parties suivantes détailleront les processus physiologiques impliqués dans l'entrée du contaminant dans l'organisme et les moyens d'évaluation disponibles.

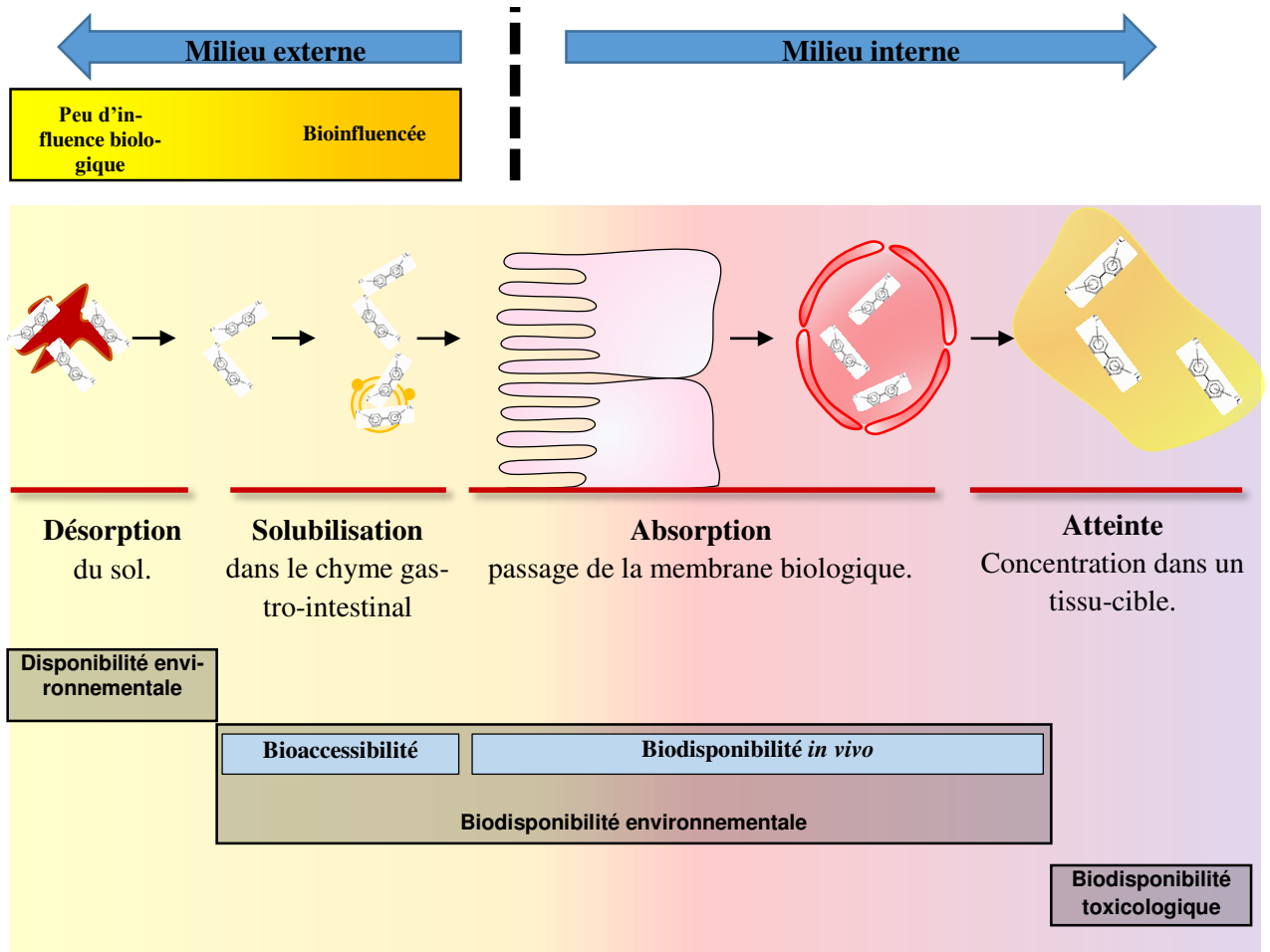


Figure 11 : Étapes successive de la biodisponibilité et méthodes d'évaluation

2. Les méthodes d'évaluation de la biodisponibilité

Dans le cadre de notre thématique, il paraît évident qu'il est éthiquement impossible de réaliser une étude clinique sur l'enfant. L'utilisation d'une expérimentation animale et/ou de tests *in vitro* simulant la physiologie de l'enfant apparaît, donc, nécessaire pour réaliser cette évaluation.

a. L'évaluation de la biodisponibilité *in vivo* chez l'Homme

i. Le choix du modèle animal

(i-1). Les espèces usuellement utilisées en biodisponibilité.

Plusieurs espèces animales ont été utilisées pour évaluer la biodisponibilité chez l'Homme. Parmi les modèles animaux les plus utilisés pour la détermination de la biodisponibilité orale on peut trouver les rongeurs (rat et souris), les lagomorphes (lapins), les porcins ou encore les primates et des carnivores domestiques (chiens). Globalement, peu de données ont ainsi été accumulées sur la biodisponibilité des PCB contaminant les sols après ingestion. Un recul plus important est disponible pour les HAP, voir les dioxines (*cf.* Tableau 4). Il ressort de ces données que l'espèce majoritairement utilisée en évaluation de la biodisponibilité est le rongeur et plus particulièrement le rat. Concernant la biodisponibilité des PCB dans le sol des données sont disponibles sur le rat (Fries et Marrow, 1992 ; Pu *et al.*, 2006).

Si plusieurs modèles animaux existent, il est nécessaire de s'interroger sur la pertinence de chaque modèle vis-à-vis de la problématique scientifique posée. Même s'il est difficile de déterminer quel modèle animale est le plus satisfaisant, il apparaît dans le cadre de nos travaux que la proximité physiologique et anatomique du système digestif est un critère de première importance pour raisonner ce choix. Nous développerons donc les différentes caractéristiques physiologiques et chez les espèces utilisées lors des études de la biodisponibilité.

(i-2). Les différences morpho-anatomiques

Les caractéristiques morpho-anatomiques des mammifères varient grandement d'une espèce à l'autre même si les compartiments et les fonctions remplies semblent conservés. Ces variations entre espèces sont à mettre en relation avec le régime alimentaire auquel elles sont adaptées. Une première comparaison des différences anatomiques permet, ainsi, de mieux appréhender les différences entre espèces. Parmi les différents compartiments on peut distinguer deux compartiments particulièrement importants pour la digestion des aliments et, *in fine*, l'absorption : l'estomac et l'intestin.

– L'estomac

Il s'agit d'un compartiment majeur dans le processus de digestion. Par ces constantes physico-chimiques (pH 1-2) les sucs gastriques (HCl, protéases, pepsinogène, gastrine) couplés par un brassage entraîne la solubilisation d'une partie de la fraction minérale du sol. Ainsi les composés sorbés à la composante minérale du sol sont solubilisés dans l'estomac (Oomen *et al.*, 2006). Les représentations anatomiques et les

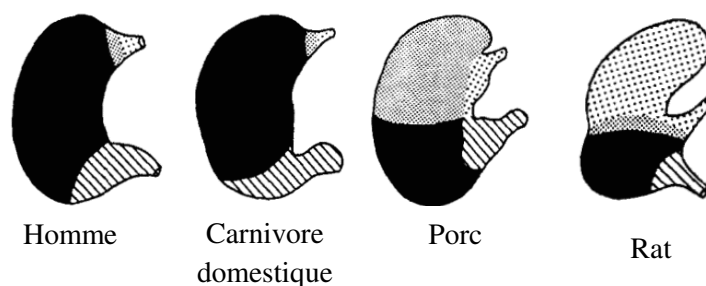
Modèle animal	Polluant et doses (sans précision : mg kg ⁻¹)		Véhicule d'exposition	Absorption/ biodisponibilité	Référence
Rongeurs (rat)					
SD (♂)	PCB 52 et 118		Sols présentant des propriétés variées (taux de carbone organique : 0,5-2,9%, argile : 8-38, pH 4,6-7,4) contaminés artificiellement avec des PCB à 600 µg.Kg ⁻¹ . Référence : huile de maïs	La biodisponibilité absolue du PCB 52 variait entre 53 et 67%. La biodisponibilité relative entre 109 et 126%. Pour le PCB 118 : entre 61 et 70% de biodisponibilité absolue et une biodisponibilité relative entre 87 et 99%	(Pu <i>et al.</i> , 2006)
SD (♂)	HAP, phen. 400-800 µg kg ⁻¹ PV		Sols (TOC : 0,5-1,7% ; Argile : 8-38% ; pH : 4,6-7,4)	La biodisponibilité absolue du phénanthrène fut de 24 à 25% (respectivement 400 et 800 µg kg ⁻¹) 15 à 49% pour le sol.	(Pu <i>et al.</i> , 2004)
F-344 (♂)	HAP		Goudron de houille contaminé artificiellement	L'impact du vieillissement n'a été que faible. L'introduction de goudron de houille dans le sol a engendré une diminution de la biodisponibilité et une réduction dans l'élimination du métabolite 1-hydroxypyrene et une concentration diminuée	(Reeves <i>et al.</i> , 2001)
L	HAP, Anth, pyr, B[a]p		Sol industriel avec B[a]p à 9,2mg kg ⁻¹ de PV	L'excrétion urinaire a été 17,7 fois plus élevée lorsque le pyrène a été introduit en tant que composé pur par rapport à son introduction <i>via</i> le sol	(Van Schooten <i>et al.</i> , 1997)
F-344 (♂)	HAP		Goudron de houille contaminé : 3200 à 3500 mg kg ⁻¹ . Dose administrée : 100 à 250 mg kg ⁻¹	Le poids du foie fut 30% supérieur chez les animaux qui ont été exposés au goudron de houille. La présence de sol a permis de diminuer la biodisponibilité des composés génotoxique dans le goudron de houille, toutefois, le vieillissement n'a pas eu d'incidence	(Bordelon <i>et al.</i> , 2000)
F-344	HAP		Sols provenant d'industrie gazière : HAP total de 7 à 1040 mg.Kg ⁻¹	90-95% des HAP ont été retrouvés dans les fèces. L'absorption des HAP des sols traité a été réduite de 60%	(Stroo <i>et al.</i> , 2000)
SD	HAP		HAP contaminant le sol d'une industrie de charbon. Concentration totale de HAP : 509 mg kg ⁻¹	La biodisponibilité absolue et relative des HAP n'a pas été déterminée. Toutefois l'activité EROD a été augmentée par la présence de HAP.	(Fouchécourt <i>et al.</i> , 1999)
SD	PCDD/F		Sol prélevé sur plaine inondable pg.g ⁻¹ (TEQ = 651 pg.g ⁻¹) et sol urbain (TEQ=264 pg.g ⁻¹).	La biodisponibilité relative pour les deux sols fut respectivement 37 et 60%. La matrice de référence est l'huile de maïs. Calcul de la biodisponibilité relative basée sur l'induction d'enzymes hépatiques	(Budinsky <i>et al.</i> , 2008)
F-344 (♂)	B[a]p	0,37 – 3.7	Huile de cacahuète	91%	(Hecht, Grabowski, et Groth, 1979)
F-344 (♂)	B[a]p	0.002	Hamburger broyé	89%	(Hecht, Grabowski, et Groth, 1979)
F-344 (♂)	B[a]p	100	Huile de cacahuète	40%	(Ramesh <i>et al.</i> , 2001)
SD (♂)	B[a]p	2-60	20% emulphor et 80% solution de glucose (vol/vol)	>90%	(Bouchard et Viau, 1999)

Modèle animal	Polluant et doses (sans précision : mg kg ⁻¹)	Véhicule d'exposition	Absorption/ biodisponibilité	Référence
SD (♂)	B[a]p 0.002	Gavage	>80%	(Yamazaki et Kakiuchi, 1989)
Wistar (♂)	B[a]p 1000	Alimentaire	89%	(Rabache, Billaud, et Adrian, 1985)
Wistar (♂)	B[a]p 1 mmol	Huile de maïs et alimentaire	28%	(van de Wiel <i>et al.</i> , 1993)
Rongeurs (Hamster)				
Hamster (♂)	B[a]p 0.16-5.5	Huile d'olive	97%	(Mirvish <i>et al.</i> , 1981)
Rongeurs (Souris)				
Souris	HAP Jusqu'à 3120 mg.Kg ⁻¹	Sol et extrait du sol	Non calculée. Le sol présente toutefois une biodisponibilité diminuée (9-75%)	(Koganti <i>et al.</i> , 1998)
Ovins et Caprins				
Ovins (femelle mérinos)	B[a]p 10-20 µCi + 1 mg	Toluène et foin	54-67 %	(West et Horton, 1976)
Chèvre	B[a]p 2.5 x10 ⁶ Bq	Huile végétale	5,5%	(Grova <i>et al.</i> , 2002)
Porcins				
porc	B[a]p 50 µCi	Lait	33%	(Laurent <i>et al.</i> , 2002)
porc	PCDD/F	Dose quotidienne de 0,5g de sol par kg ⁻¹ (2,63 ng I-TEQ/kg ⁻¹ j ⁻¹ ou 1,58 ng I-TEQ/kg ⁻¹ j ⁻¹)	La biodisponibilité absolue trouvée était de 0,6 à 22% pour le sol et 3 à 60% quand administré par solvant. Ainsi la biodisponibilité relative se situe entre 2 et 42%	(Wittsiepe <i>et al.</i> , 2007)
porc	PCDD/F	Sol prélevé sur plaine inondable (TEQ = 651) et sol urbain (TEQ=264).	20-25%	(Budinsky <i>et al.</i> , 2008)

Tableau 4 : Biodisponibilité des POP (PCB, HAP, PCDD/F) utilisant des modèles animaux

Abbréviations utilisées dans le tableau :

Anth : anthracène ; B[a]p : benzo-a-pyrène ; F-344 : rat Fischer 344 ; L : rat Lewis ; PCDD/F : *polychlorinated dibenzodioxins* ; phen : phenanthrène ; pyr : pyrène ; SD : rat Sprague-Dawley ; TOC : *organic carbon total* ; ♂ : mâle



Epithélium stratifié aglandulaire.
 Le cardia.
 Portion pylorique

Figure 12 : Variation dans le type et la distribution de la muqueuse gastrique

Les figures ne sont pas à l'échelle

Reprinted with permission from (Kararli, 1995), Copyright © 1995 John Wiley & Sons, Ltd.

Espèce	Organe	Longueur (sans précision : m)	Longueur relative (%)	Ratio longueur corps : longueur de l'intestin.
porc	Intestin grêle	18,29m	78	1 : 14
	Caecum	0,23m	1	
	Colon	4,99m	21	
	Total	23,51m	100	
chien	Intestin grêle	4,14m	85	1:6
	Caecum	0,08m	2	
	Colon	0,60m	13	
	Total	4,82m	100	
rat	Intestin grêle	102-149 cm	88-89	1:7-1:10
	Caecum	5-7 cm	4-6	
	Colon	9-10 cm	5-8	
	Total	116-166 cm	100	
Homme	Intestin grêle	6,3m	79	1:5
	Caecum	0,20m	2	
	Colon	1,5m	19	
	Total	8,0	100	

Tableau 7: Longueur anatomique absolue et relative des organes suivant l'espèce considérée

Reprinted with permission from (Kararli, 1995), Copyright © 1995 John Wiley & Sons, Ltd.

Espèce	Flux et composition biliaire	Valeurs
porc	Flux ($mL j^{-1}kg^{-1}$)	52 ^a
	Concentrations ($mmol j^{-1}kg^{-1}$)	3,35 ^a
chien	Flux ($mL j^{-1}kg^{-1}$)	19-36
	Concentrations ($mmol j^{-1}kg^{-1}$)	40-90
rat	Flux ($mL j^{-1}kg^{-1}$)	48-92
	Concentrations ($mmol j^{-1}kg^{-1}$)	17-18
Homme	Flux ($mL j^{-1}kg^{-1}$)	2,2-22,2
	Concentrations ($mmol j^{-1}kg^{-1}$)	3,0-45

Tableau 5 : Flux et concentration en sels biliaires suivant l'espèce considérée

Source :

^a : (Van Hecke, 1983)

(Kararli, 1995)

Reprinted with permission from (Kararli, 1995), Copyright © 1995 John Wiley & Sons, Ltd.

Espèce	Organe	pH
porc	Estomac	2,2-4,3
	Intestin grêle	6,0-7,5
	Caecum	6,3
	Colon	6,8
chien	Estomac	3,4-5,5
	Intestin grêle	6,2-7,5
	Caecum	6,4
	Colon	6,5
rat	Estomac	3,3-5,0
	Intestin grêle	6,0-7,5
	Caecum	6,8
	Colon	6,6
Homme	Intestin grêle	1,5-3,5
	Caecum	5,0-7,0
	Colon	-
	Total	5,5-7,0

Tableau 6 : pH relevé sur les différentes portions du tube digestif suivant l'espèce considérée

Reprinted with permission from (Kararli, 1995), Copyright © 1995 John Wiley & Sons, Ltd.

différentes sections de l'estomac sont représentées en Figure 12. Pour les quatre espèces, le rat, le porc, le chien et l'Homme, on peut noter que l'estomac est de type glandulaire et divisible en 4 portions. Chez le rat on peut distinguer une large portion non glandulaire, tandis que chez le porc, l'estomac (2 à 3 fois plus large) comprend un cardia important (Kararli, 1995). Concernant la proximité anatomique, le chien présente une anatomie très similaire à celle de l'Homme (*cf.* Figure 12).

– L'intestin grêle

Il comprend le duodénum, l'iléon et le jéjunum. Il est le siège des déversements des différentes enzymes, sels et protéines entre le duodénum et l'iléon. Il est le siège de l'absorption de nutriments dont les lipides. La paroi luminale de l'intestin est recouverte de villosités augmentant la surface d'échange avec le chyme gastro-intestinal. Ces villosités présentent une morphologie en « doigt » pour le porc, le chien et l'Homme et en « langue » pour le rat. Les tailles des différentes portions de l'intestin sont présentées dans le Tableau 7. Comme l'estomac, l'intestin est le siège de nombreuses variations. Ainsi pour le chien, l'intestin est relativement simple et court. Le tube digestif chez le porc est également simple mais bien plus long et ce surtout relativement à la taille de l'animal (*cf.* Tableau 7).

– Le colon

Le colon a un rôle majeur dans l'absorption de l'eau, des minéraux et des ions. Sa longueur et sa morphologie présentent des différences marquées entre les espèces. Comme l'Homme, le porcelet présente un côlon dont les sections sont sacculées. Le colon du chien ne présente pas de sacculature. Le rat présente un cæcum plus développé jouant un rôle majeur dans la fermentation *a contrario* des autres espèces. Son côlon ne présente pas de sacculature.

Ainsi, la morphologie des sections digestives apparaît adaptée à la nature du régime alimentaire de chaque espèce. Ainsi le côlon pourra être l'objet de la fermentation chez l'Homme, le porc, et d'une moindre mesure chez le chien, tandis que le rat présentera une fermentation au sein du cæcum. Notons toutefois qu'aucune espèce ne présente fidèlement la morphologie anatomique de l'Homme. Si le chien possède un estomac très similaire, l'intestin et le colon, sièges de l'absorption, sont plus proches chez le porc. Le rat par son mode de fermentation, son estomac et la structure de son intestin présente des dissemblances relativement marquées avec l'Homme.

(i-3). Les différences physiologiques.

Au-delà des aspects anatomiques, les caractéristiques physiologiques apparaissent comme déterminantes dans le relargage des contaminants du sol. Parmi les paramètres ayant un impact majeur sur la digestion, le pH et la concentration et flux de sels biliaires apparaissent prédominants.

– Le pH

Les variations et valeurs de pH sont des paramètres critiques dans la dissolution, la solubilisation des nutriments tout comme la déstructuration du bol alimentaire. Ces variations résultent des sécrétions successives de chaque organe. Ainsi, l'estomac abaisse fortement le pH du chyme gastro-intestinal puis est stabilisé par des tampons bicarbonate dans l'intestin grêle. Le pH est un paramètre variable d'une espèce à l'autre et les variations pour chaque portion d'organe peuvent être trouvées dans le Tableau 6 pour le rat, le chien, le porc et l'Homme. Le chien et le rat peuvent présenter, ainsi, des valeurs de pH gastrique plus élevées que les autres espèces. L'Homme présente des valeurs de pH un peu plus faibles que les autres espèces pour l'intestin grêle. Le pH du colon est, toutefois relativement similaire entre les quatre espèces.

– La bile

La bile est connue pour être particulièrement importante dans l'absorption des lipides et vitamines liposolubles. Ainsi, les sels biliaires permettent de solubiliser par émulsion les éléments lipidiques non solubles en phase aqueuse. Ils jouent également un rôle important dans le devenir des lipides dans l'organisme en orientant les lipides absorbés vers la lymphe. Secrétée par le foie, la bile peut être stockée dans la vésicule biliaire et déversée dans le duodénum. Elle participe, du fait de son alcalinité, à la neutralisation du chyme gastro-intestinal. En termes de composition et de flux, cette bile peut varier chez les différentes espèces. Chez l'Homme, les acides choliques sont les plus abondants (42% acides choliques 26% deoxycholique) tandis que chez le porc, l'acide hyocholique est majoritaire (environ 2/3 d'acide hyocholique et 1/3 d'acides chenodeoxycholique) (Wostmann, 1996). Le chien présente lui une très abondante part d'acide cholique (95%) (Wostmann, 1996). Pour le rat, une large part d'acide cholique est sécrétée (75%) (Wostmann, 1996). Les flux et concentrations biliaires sont présentés en Tableau 5.

Le rat possède ainsi une concentration plus élevée en sels biliaires et un flux plus abondant sur 24h que l'Homme. Si le flux peut être comparable entre l'Homme et le chien, le chien présente une concentration plus importante. Enfin le porc présente un flux plus important mais une concentration similaire à l'Homme (Van Hecke, 1983).

Ainsi, suivant l'espèce choisie des différences importantes peuvent être soulignées vis-à-vis de l'Homme. Concernant le pH, les dissemblances au niveau de l'estomac sont majeures entre l'Homme, le rat et le chien. La composition de la bile se distingue de l'Homme pour le porc, tandis que les flux et les concentrations en sels biliaires sont similaires.

(i-4). Recommandations existantes, synthèse et choix.

Une des difficultés inhérentes à l'évaluation de l'exposition est d'obtenir après expérimentations des données pouvant répondre à une problématique posée. Le critère d'adéquation, de correspondance entre données issues de l'expérimentation et l'application de ces résultats est primordial. Une seule étude a pour le moment été publiée mettant en œuvre une expérimentation sur rat et sur porc (Budinsky *et al.*, 2008). Elle

a permis de mettre en lumière des différences d'absorption entre les deux espèces. Toutefois la méthodologie pour le groupe de rats et de porcs étant différente (respectivement mélange au sein de l'aliment et dépôt dans une boulette d'aliment), ce qui peut avoir une incidence importante sur les résultats observés. Ainsi, le manque de recul sur l'impact de l'espèce choisie sur les expérimentations menées en évaluation de l'exposition est important.

Dans le domaine de l'évaluation des risques des sols contaminés par les métaux, l'effet de l'espèce choisie est bien plus documenté (Kelley *et al.*, 2002). Les variations anatomiques et physiologiques décrites précédemment sont des pistes explicatives aux différences observées. Si le Primate disposerait d'une proximité tant anatomique que physiologique de l'Homme, l'éthique comme les coûts limitent la réalisation de telles études. En considérant les 3 espèces de Mammifères de laboratoire utilisées lors de l'évaluation de la biodisponibilité, le porc et le chien apparaissent bien plus proches de l'Homme anatomiquement et physiologiquement que le rat. Cependant le modèle rongeur est largement employé (cf. Tableau 4). Ces différents aspects ont poussé l'U.S. EPA à mettre en œuvre une méthodologie pour le plomb basée sur l'utilisation du porc comme espèce modèle (Casteel *et al.*, 1997 ; Casteel *et al.*, 2006). Outre les éléments décrits précédemment plusieurs caractéristiques similaires entre le Porcelet et l'enfant sont à souligner (Caboche, 2009 ; Davis *et al.*, 2001 ; Kelley *et al.*, 2002 ; Weis et Lavelle, 1991):

- le temps de transit qui est similaire dans les organes du tractus digestif (Davis *et al.*, 2001)
- le régime alimentaire omnivore
- la croissance relativement lente
- une digestibilité importante des lipides (>85%) (Orban et Harmon, 2000).

En absence de recommandations précises, le choix raisonné d'un modèle animal s'impose. Le rat, espèce très utilisée en évaluation de la biodisponibilité apparaît assez éloigné des processus digestifs de l'Homme. Le chien et le porc, plus proches apparaissent comme de meilleures alternatives. Toutefois pour des raisons éthiques, la praticité en laboratoire il apparait que le porc s'avère plus aisé d'emploi. Il est de même un meilleur modèle gastrique (pH), de certains paramètres intestinaux (bile, forme et taille du côlon) que le chien. Ainsi le modèle porcin apparaît comme une espèce de choix pour permettre l'évaluation de la biodisponibilité des PCB dans le sol

ii. Méthodologie de la mesure de la biodisponibilité

Il existe plusieurs approches pour déterminer la biodisponibilité d'un composé. Parmi les approches existantes on distinguera les variations de méthode. Nous nous focaliserons sur les méthodes d'exposition orale par le sol contaminé.

– La biodisponibilité absolue

Le but de la méthode est de déterminer la fraction pénétrant l'organisme. Pour se faire le point limite choisi est l'atteinte de la circulation générale (Kelley *et al.*, 2002 ; U.S. EPA, 2007b). Elle correspond à un rapport entre la fraction d'exposition (dose ingérée) et la fraction pénétrant l'organisme (dose absorbée). Toutefois il est difficile de déterminer précisément la dose absorbée dans le sang puisque l'absorption orale (entrée du contaminant dans l'organisme) induit un flux d'entrée étalé dans le temps. C'est l'aire sous la courbe qui permet d'obtenir une quantité. Néanmoins, celle-ci doit être comparée à l'aire sous la courbe (AUC) obtenue quand la totalité de la dose passe dans l'organisme. Elle est évaluée en effectuant une intraveineuse. La biodisponibilité absolue est alors déterminée par le ratio des deux aires sous la courbe. Son équation est donnée ci-dessous :

$$\text{Biodisponibilité Absolue} = \frac{\text{fraction atteignant la circulation générale}}{\text{fraction ingérée}} = \frac{AUC_{\text{orale}}}{AUC_{\text{administrée}}}$$

Ainsi la limite majeure de cette méthode est la réalisation de multiples prises de sang d'un volume compatible aux analyses chimiques ultérieures. Concernant les molécules lipophiles, le sang peut n'être qu'un compartiment très transitoire et dont la concentration demeurera relativement faible. Il apparaît difficile, donc, de réaliser une étude de ce type sans administrer et faire ingérer une dose pouvant engendrer des effets toxiques à l'animal.

– La biodisponibilité relative

La biodisponibilité relative procède à la comparaison de l'absorption d'un même composé administré par des matrices différentes. Elle permet ainsi de déterminer l'effet d'une matrice vis-à-vis d'une matrice de référence. Son équation est donnée ci-dessous :

$$\text{Biodisponibilité relative} = \frac{\text{fraction absorbée via le sol}}{\text{fraction absorbée via la forme de référence}}$$

La forme de référence sera la base de cette comparaison. Parmi les propriétés de cette matrice de référence devront être choisies à l'aune de l'objectif scientifique poursuivi. Dans le cadre de notre étude, il apparaît nécessaire (1) que le contaminant puisse être soluble dans une matrice (2) qui puisse être facilement assimilable. De même, il paraîtrait judicieux de choisir une matrice de référence plutôt alimentaire afin de pouvoir comparer mieux l'exposition de l'enfant au sol contaminé à son exposition *via* l'alimentation. L'exposition alimentaire aux PCB est particulièrement documentée (ANSES, 2011 ; ANSES, [s.d.]).

La biodisponibilité relative peut être calculée, en outre, en utilisant soit le sang (et en réalisant un rapport de biodisponibilité absolu) (Casteel *et al.*, 2006 ; Guo, Kelley, et Goh, 2007 ; U.S. EPA, 2007b) soit en déterminant directement la concentration dans un organe. Ce dernier choix permet d'allonger la durée d'exposition permettant, ainsi, d'augmenter la concentration dans les organes tout en respectant une exposition

répétée à faible dose. Pour ce dernier point deux méthodes peuvent être utilisées. La première procède au ratio des concentrations trouvées dans un organe suivant à l'exposition à une dose équivalente des deux formes choisies (Budinsky *et al.*, 2008 ; Wittsiepe *et al.*, 2007). L'utilisation du ratio nécessite d'avoir vérifié au préalable la linéarité de la dose-réponse dans la gamme d'exposition retenue.

Une deuxième approche détermine la réponse à la dose ingérée dans le tissu-cible en utilisant au minimum trois doses croissantes pour calculer ensuite cette biodisponibilité. Cette méthode, utilisée en nutrition animale (Littell *et al.*, 1997), utilise un nombre de répétitions plus important mais assure la qualité de la comparaison entre les deux matrices d'exposition. Elle détermine ainsi :

- que le modèle dose-réponse pour la matrice testée et la forme de référence est le même.
- que pour les faibles concentrations ce modèle est toujours valide.

Afin de valider la nature de la relation dose-réponse, un modèle quadratique puis linéaire sont testés. Le cas le plus fréquemment rencontré est le modèle linéaire pour les contaminants organiques pour la matrice sol (Bouveret *et al.*, 2013 ; Fournier *et al.*, 2012). Dans ce cas du modèle linéaire, il faut aussi déterminer si les interceptes diffèrent suivant la matrice et si ils sont significativement différents de 0.

Dans le cadre du modèle linéaire, la biodisponibilité relative peut ainsi être calculée comme le ratio des pentes obtenues pour la matrice de référence et la matrice testée. L'emploi des tissus-cibles dans l'évaluation de la biodisponibilité revêt plusieurs avantages : (1) la concentration des contaminants au sein de ces tissus permet de s'affranchir des limites de quantifications, (2) en termes de risques, la concentration représente la fraction susceptible d'engendrer un effet indésirable sur ce tissu. Le choix de ce dernier pourra donc coïncider avec un effet biologique connu : l'accumulation, la métabolisation ou la réponse toxicologique.

Ainsi il apparaît que la biodisponibilité relative est particulièrement adaptée au cadre de notre étude. Non seulement elle peut se baser sur des tissus cibles (et donc des niveaux supérieurs au seuil limite de quantification lors des analyses), mais elle permet de comparer l'impact de la forme d'exposition, ici la matrice sol.

b. Évaluation de la bioaccessibilité

La bioaccessibilité représente la fraction des xénobiotiques pouvant être extraite de la matrice à laquelle l'individu est exposé et qui est disponible pour l'absorption. L'évaluation de la bioaccessibilité humaine est réalisée par l'utilisation de tests *in vitro* dont les étapes miment le processus de la digestion humaine en se rapprochant des conditions physiologiques (Oomen *et al.* 2000, 2004).

L'évaluation de la biodisponibilité par l'étude de la bioaccessibilité permet de prendre en compte l'extraction et la solubilisation des composés organiques étudiés de la matrice de rétention. Elle permet également de s'affranchir des variations physiologiques de l'animal en permettant d'évaluer cette fraction extractible par une méthode répétable.

De nombreux tests ont été développés, et on peut ainsi retrouver plusieurs types utilisés pour déterminer la part bioaccessible d'un contaminant :

– **Les tests *in vitro* dynamiques**

Dans les tests les plus complexes, les tests dynamiques permettent de rendre compte des attaques chimiques et physiques se produisant dans le tractus gastro-intestinal et de leur adaptation avec une modification continue des paramètres physiologiques simulés et un échantillonnage permanent. Un des tests plus employés a été développé par *Netherlands organisation for applied scientific research* (TNO) et nommé *TNO intestinal model* (TIM) (Minekus *et al.*, 1995 ; Oomen *et al.*, 2002). Ce test est toutefois coûteux du fait du nombre d'étapes à mettre en œuvre.

– **Les tests *in vitro* statiques**

Les tests statiques couramment utilisés dans la littérature sont les tests *in vitro Physiologically based extraction test* (PBET), *Solubility Bioaccessibility Research Consortium* (SBRC), *in vitro gastrointestinal extraction method* (IVG) et la méthode du *National Institute for Public Health and the Environment* (RIVM). Ces tests, plus simples, miment les paramètres physiologiques fixés pour chaque compartiment étudié. Ces tests sont moins coûteux et plus rapides, et sont donc principalement utilisés lors de l'étude de la bioaccessibilité des contaminants dans le sol, mais les variations des protocoles font que peu de résultats sont comparables deux à deux. Le *BioAvailability Research Group Europe* (BARGE) a montré pour les contaminants métalliques de grandes variabilités de données qui pourraient être expliqués suivant les différences de paramètres physiologiques choisis (pH, temps de contact, méthode de récupération de la phase bioaccessible).

Un des points faibles de certaines méthodes seraient le manque de contrôle de qualité (étalonnage, essais inter-laboratoire, mesure des incertitudes de mesure), la variabilité des réponses et leur adéquation avec les réponses observées avec la cible du modèle en font des tests fragiles dans l'étude de la biodisponibilité.

Face à ce constat BARGE, a récemment publié un test de digestion *in vitro* unifié sur les polluants métalliques dénommé *Unified BARGE Method* (UBM).

c. Nécessité d'une validation

La définition et l'utilité des tests *in vitro*, qu'ils soient basés sur la physiologie de l'animal (biodisponibilité environnementale) ou sur un test chimique (disponibilité environnementale) se doit de proposer une méthode simplifiée permettant d'obtenir des résultats fiables et représentatifs de la biodisponibilité des contaminants dans le sol. Afin de satisfaire ce critère de validation, il est important de comparer les données obtenues par ce test à des données reconnues comme fiables. Dans le cadre d'un test *in vitro* et similairement à des démarches préconisées par des agences de sécurité et de recommandation (NRC, 2003 ; U.S. EPA, 2007b) ces tests devraient être comparées vis-à-vis de données issues d'approches *in vivo*. Lorsque la biodisponibilité relative sert de référence, la bioaccessibilité relative doit également être utilisée. À ce jour

aucun test *in vitro* n'a été validé pour les contaminants organiques, un test est toutefois en cours de réalisation concernant les HAP (collaboration entre le BGS et l'université du Saskatchewan, Canada). Pour les PCB une seule tentative a été réalisée comparant un test *in vitro* basé sur la physiologie (test PBET) et un modèle rongeur (rat) (Pu *et al.*, 2006). Cette validation n'a, toutefois, pas été concluante. Généralement la validité des tests *in vitro* est déterminée à l'aune de la corrélation entre des valeurs de bioaccessibilité et de biodisponibilité.

Résumé de la Partie 2 :

La biodisponibilité orale des contaminants organiques persistants peut se définir comme la « fraction d'un composé administré qui est absorbée par un animal et qui peut être métabolisée, accumulée ou excrétée dans un ou plusieurs compartiments cibles biologiques définis » (Fries *et al.* 1989).

Plusieurs méthodes d'évaluation sont employées pour décrire qualitativement ou pour quantifier la biodisponibilité. La modélisation *in vivo* permet de prendre en compte un maximum d'étapes de la biodisponibilité et de procéder à une évaluation de la biodisponibilité toxicologique et environnementale, c'est-à-dire la contamination puis la sorption des contaminants au sein de la matrice sol, leur désorption, leur solubilisation dans le tractus gastro-intestinal et leur absorption.

Cependant la grande complexité de la matrice sol et des paramètres à prendre en compte, qu'ils soient biotiques (dégradation des composés, composition de la matière organique, conditions de pH, composition en argile et silice) ou non biotiques (contamination, nature et utilisation anthropique du sol (industrielle, agricole, urbain, etc...), séchage, dégradation chimique du sol, intrants, ...) fait que l'on distinguera deux grandes phases dans l'appréhension des modulations de la biodisponibilité par les caractéristiques du sol.

- Le processus de sorption et de rétention des composés organiques
- Le processus de désorption et d'absorption des composés organiques puis leur distribution aux organes.

L'apport des approches *in vitro*, reposant sur une simplification des approches *in vivo*, permettent d'appréhender les interactions entre le sol et les composés organiques. Ces modèles sont particulièrement intéressants pour sélectionner certains paramètres influant sur les capacités de sorption et de rétention des composés organiques dans le sol et de comprendre les modalités de cette sorption. De même, ces modélisations permettent d'appréhender les processus de rétention en déterminant comment les composés organiques sont retenus et les différentes forces de rétention qui peuvent être envisagées.

PARTIE 3:

La biodisponibilité toxicologique : l'atteinte des organes

Cette partie décrira le devenir des PCB au sein de l'organisme en se basant sur les données toxicocinétique connues. Elle permet ainsi de caractériser les étapes de l'absorption jusqu'à l'atteinte d'un organe cible, sa métabolisation puis son excrétion. *In fine*, des approches de modélisation de ce devenir seront présentées.

1. La biodisponibilité toxicologique des PCB : approche descriptive et complexité des approches quantitatives

Dans la finalité de décrire le devenir d'un contaminant au sein de l'organisme plusieurs approches quantitatives ont été abordées. Ainsi la pharmacocinétique ou la toxicocinétique permettent une description qualitative et quantitative du devenir des xénobiotiques sous une forme d'exposition imposée. Cette étude est décomposée usuellement en quatre étapes distinctes et successives qui sont l'Absorption, La Distribution, la Métabolisation et l'Excrétion (ADME).

a. L'absorption

Il s'agit de l'étape qui suit l'évènement de l'exposition au composé jusqu'à son assimilation au sein de l'organisme. Concernant les PCB, l'absorption dépend de la voie d'exposition considérée. La population générale est exposée majoritairement aux PCB par ingestion de matrices alimentaires contaminées (ATSDR, 2000). Toutefois d'autres voies d'exposition sont décrites comme la voie d'exposition percutanée ou par inhalation, cette dernière étant majoritairement une voie d'exposition professionnelle. Plusieurs études révèlent une assimilation aisée des PCB avec des rendements supérieurs à 65% sur les rats (Fries, 1985 ; Tanabe, Nakagawa, et Tatsukawa, 1981).

Concernant l'Homme des études rapportent de plus amples variations, ainsi chez certains sujets ce rendement peut être inférieur à 40% et chez d'autres, proche de 92% (Schlummer, Moser, et McLachlan, 1998). Les nourrissons présenteraient, du fait d'une perméabilité aux lipides plus importante de leur système digestif, un rendement d'assimilation pouvant être supérieur à 90%. Une étude a ainsi pu déterminer sur un nourrisson de 19 semaines une absorption de l'ordre de 96% (McLachlan, 1993). Une autre étude portant sur quatre nourrissons 1 à 6 mois a de même été effectuée (Dahl *et al.*, 1995). Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence de différence d'absorption suivant l'âge des sujets mais une variation suivant le degré de chloration des PCB. Dans ces deux dernières études, notons le faible effectif expérimental et la méthode étudiée (*mass balance*) rendant, certes, les conclusions de ces études difficilement généralisables, mais qui permettrait de tabler, pour la population des enfants de 1 à 3 ans, sur une absorption efficiente voir totale des PCB. On notera tout de même que l'absorption pourrait être réduite lorsque les taux sanguins en PCB sont élevés. Ceci serait la conséquence de la diminution du gradient engendrée par ces taux importants (Schlummer, Moser, et McLachlan, 1998). Notons toutefois que l'affinité pour les lipides du chyme gastro-

intestinal serait inférieure à celle de la circulation sanguine (Schlummer, Moser, et McLachlan, 1998) et que lors de l'absorption de ces lipides une concentration bien supérieure dans le compartiment sanguin est atteinte. Certaines propriétés de la molécule comme leur chiralité induirait de même des variations d'absorption, ainsi le un-énantiomère PCB 136 semble avoir une absorption orale facilitée dans les tissus lors d'une exposition à un mélange racémique (Kania-Korwel *et al.*, 2007). Les PCB, molécules lipophiles et apolaires, sembleraient être absorbés suivant les mêmes étapes que les lipides. Durant la digestion, les composés lipophiles non solubles dans la phase aqueuse du chyme gastro-intestinal sont pris en charge par les sels biliaires. Ces derniers peuvent passer par endocytose les cellules en brosse constituant l'épithélium intestinal. Cette voie semblerait être valable aussi bien pour les nutriments lipophiles (acides gras, stérol...) que pour les xénobiotiques lipophiles (POP, toxines...). Peu d'études toutefois se sont focalisées sur les PCB.

b. La distribution

Une fois assimilé le xénobiotique est distribué aux organes *via* la circulation systémique. Après absorption les PCB se diffuseraient préférentiellement au sein des chylomicrons (lipoprotéines de transport des lipides après leur absorption). Ceci a été vérifié chez des carnivores domestiques et des caprins (Busbee *et al.*, 1985 ; Ziprin *et al.*, 1980). Toutefois il n'est pas exclu que, suivant le degré de chloration et le degré d'hydrophobicité des PCB, une fraction plus ou moins importante de ces derniers puissent également être transportés *via* la veine porte. En effet si un mélange présentant une majorité de PCB trichlorés (Aroclor 1242) est majoritairement distribué par voie lymphatique (Ziprin *et al.*, 1980), une autre étude souligne toutefois qu'un PCB dichloré, le 2,4'-dichlorobiphenyl, semblerait plus enclin à être distribué *via* le système porte (Busbee et Ziprin, 1994). Ce *distinguo* peut s'avérer important du fait que la lymphe intestinale ou chyle, *a contrario* du sang veineux, n'est pas soumis à un effet de premier passage hépatique. Le chyle mis en circulation par le péristaltisme intestinal, rejoint le canal thoracique pour se déverser à la base de la veine sous-clavière gauche, atteignant, ainsi, la circulation générale. Le transport des PCB est facilité par des composants du sérum dont les éléments majeurs seraient les lipoprotéines et l'albumine (Becker et Gamble, 1982 ; Borlakoglu *et al.*, 1990 ; Busbee *et al.*, 1985 ; Maliwal et Guthrie, 1982 ; Mohammed *et al.*, 1990). Ces derniers peuvent être utilisés comme forme de transport simple, aidant à leur solubilisation, et/ou profiter également de capacités d'adressage ou de captation plus ou moins spécifiques de ces derniers par les organes (Gallenberg et Vodcnik, 1987). Si cet effet est bien connu pour les molécules pharmaceutiques, peu d'études reprennent ces données pour les POP. Ainsi les PCB pourraient être répartis entre les VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*, lipoprotéines de très basse densité) et la fraction protéique du sérum (Gallenberg et Vodcnik, 1987). Cette répartition pourrait varier suivant les congénères et leur degré de chloration. Pour le PCB 153 il a été avancé qu'après le passage hépatique et donc le remaniement des lipoprotéines, près de 80% de la charge se trouverait liée aux VLDL, le reste étant lié aux protéines du sérum (Gallenberg et Vodcnik, 1987)

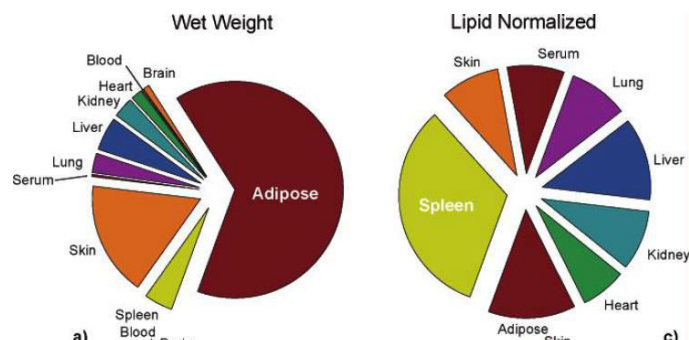


Figure 13: Répartition tissulaire des PCB totaux

Concentrations (ng par gramme de poids frais ou normalisé à la teneur en lipides) après un traitement à l'Aroclor 1254 de rats Spraghe Dawley de 1 mois (n=4). L'exposition consiste en une injection intrapéritonéale d'une quantité adéquate d'une huile de maïs contaminée à l'Aroclor 1254 pour atteindre la dose de 26mg/Kg. Après une unique injection, les animaux ont été euthanasiés le 7^{ème} jour suivant l'injection.

Reprinted with permission from Kania-Korwel *et al.*, (2005). © Copyright 2005 American Chemical Society

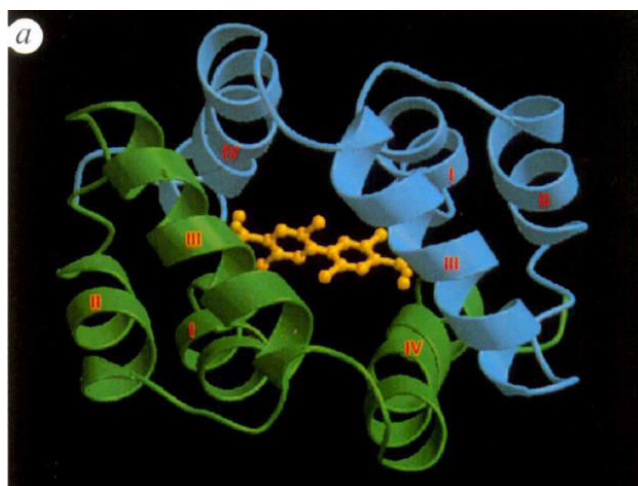


Figure 14: Représentation schématique informatique de la protéine CC10 et modélisation de la liaison avec un PCB méthyl sulfoné

La CC10 est une utéroglobuline, les synonymes couramment utilisés sont *PCB Protein-Binding* (PCB-PB), *Clara Cell 10 kDa protein*, *Clara cell secretory protein*.

Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: Nature Structural & Molecular Biology, (Hård *et al.*, 1995), © copyright 1995

Cette fixation pourrait engendrer des capacités d'adressage à des tissus spécifiques. La glande mammaire en lactation pourrait ainsi capter de façon plus importante ces VLDL transportant les PCB (Gallenberg et Vodcnik, 1987).

Un partitionnement entre les organes relativement conservé semble pouvoir être retrouvé entre organes pour les congénères possédant les mêmes propriétés lipophiles. Ainsi pour les congénères chlorés (hexa, heptachlorés) le ratio entre les concentrations par g de poids frais dans le sang, le foie et le tissu adipeux semblent du même ordre de grandeur soit une concentration inférieure de l'ordre de 300 à 500 fois dans le sang que dans le tissu adipeux, 20 à 40 fois pour le foie (Kodavanti *et al.*, 1998 ; Koss *et al.*, 1993 ; Wyss, Mühlebach, et Bickel, 1982). De nombreuses études soulignent également que le dépôt de PCB dans les tissus varierait suivant la teneur en lipides de ce tissu (Kodavanti *et al.*, 1998). Ce phénomène pourrait être expliqué (1) par une demi-vie plus importante dans le tissu adipeux (environ 7 semaines pour un composé hexa-chloré) que dans les autres compartiments (2) par le caractère lipophile des molécules (Dragnev *et al.*, 1994 ; Tanabe, Nakagawa, et Tatsukawa, 1981). Si le caractère lipidique du tissu de stockage est un élément important à prendre en compte de nombreux autres paramètres explicatifs ont déjà été soulignés. Ainsi la présence de protéines spécifiquement affines avec le contaminant étudié peut servir de base explicative à une augmentation des concentrations tissulaires dans un ou plusieurs organes (*cf.* Figure 13) (Kania-Korwel *et al.*, 2005).

Un exemple de protéine particulièrement affine aux PCB est l'utéroglobuline CC10. Cette dernière serait particulièrement affine au PCB et notamment leur dérivés méthyl-sulfonés (Härd *et al.*, 1995) issus de la métabolisation (*cf.* Figure 14). Bien que peu de supports bibliographiques détaillent d'autres exemples de protéines pouvant lier les PCB, il est très probable que des liaisons non spécifiques et d'intensités diverses puissent exister avec d'autres protéines de l'organisme. Concernant la rate peu de données permettent d'expliquer clairement les concentrations normalisées à la concentration lipidique de l'organe (*cf.* Figure 13). Certaines protéines non identifiées pourraient jouer un rôle non négligeable dans la captation ou la rétention des PCB au sein de cet organe. Une autre source importante de variabilité de distribution est le statut physiologique de l'animal ou de l'Homme. Ainsi la lactation engendrerait une captation plus importante des PCB par la glande mammaire (Gallenberg et Vodcnik, 1987). Un autre élément pouvant expliquer des variations de répartitions entre les organes serait la présence de barrière hémato-tissulaire comme la barrière hémato-encéphalique et hémato-testiculaire. En effet plusieurs publications retrouvent de faibles concentrations dans ces tissus comparativement à la dose ingérée et la concentration lipidique de ces tissus (Heinrich-Hirsch *et al.*, 1997 ; Kania-Korwel *et al.*, 2007 ; Kodavanti *et al.*, 1998). Notons de même la distribution diffère suivant l'espèce animale étudiée (Lutz *et al.*, 1984 ; Sipes *et al.*, 1982)

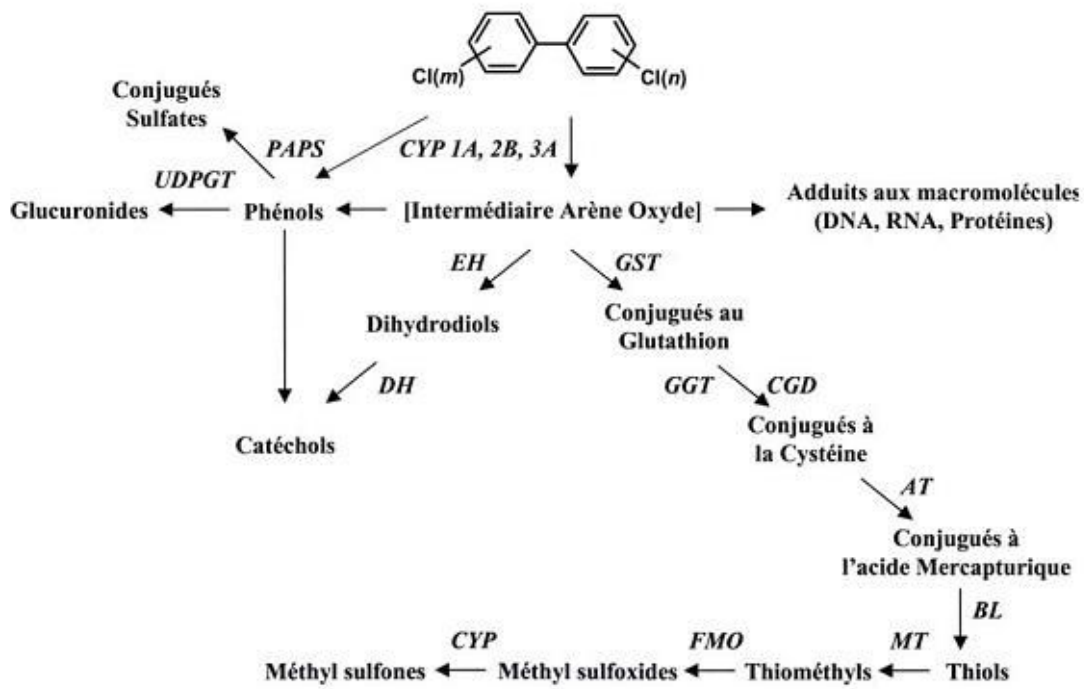


Figure 15 : Schéma des voies métaboliques des PCB chez l'animal

Source : (Cravedi et Narbonne, 2002)

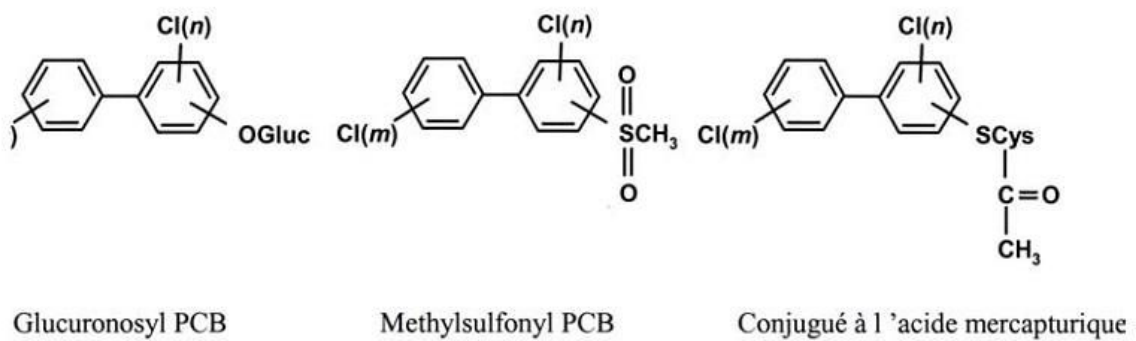


Figure 16 : Les principaux métabolites des PCB chez l'animal

Source : (Cravedi et Narbonne, 2002)

c. La métabolisation

Il s'agit de la dégradation du xénobiotique par l'organisme en un ou plusieurs métabolites. Ce métabolite peut être l'élément porteur des propriétés toxiques ou pharmacologiques de la molécule initialement assimilée. On distingue ainsi les réactions dite de **Phase I** (fonctionnalisation) dont le principe est de rendre réactive la molécule en la rendant plus électrophile. Trois types de réaction sont possibles : l'oxydation, la réduction et l'hydrolyse. Ces réactions sont supportées par des familles enzymatiques plus ou moins spécifiques du xénobiotique. Ainsi la superfamille des cytochromes P-450 (CYP) est composée de nombreux isoformes catalysant une oxydation spécifique à un substrat ou à une famille de substrat. D'autres enzymes aspécifiques aboutissent à l'oxydation de xénobiotiques ayant une fonction particulière (déshydrogénases d'alcool et d'aldéhydes, les peroxydases...). Les esters et les amides sont hydrolysées en fonction alcool et acide carboxylique électrophiles. Les réactions dites de **Phase II** (conjugaison) permettent de conférer de nouvelles propriétés chimiques aux molécules filles permettant une excrétion facilitée. Les réactions catalysées par les enzymes permettent d'aboutir à des métabolites conjugués à un substrat endogène. Cette conjugaison permet d'augmenter dans la plupart des cas l'hydrosolubilité des composés et diminuer leur réactivité améliorant ainsi leur excrétion.

La métabolisation des PCB a lieu majoritairement dans le foie (Lutz *et al.*, 1977 ; Matthews et Dedrick, 1984) et est réalisée en premier lieu par les cytochromes P450 qui aboutissent à l'hydroxylation des PCB. Cette étape d'hydroxylation serait l'étape limitante dans la dégradation aboutissant à l'élimination des PCB (Lutz *et al.*, 1977 ; Matthews et Dedrick, 1984). Après cette hydroxylation initiale, le composé peut être directement excrété ou métabolisé de nouveau. Les métabolisations supplémentaires décrites peuvent être de nouvelles hydroxylations ou des conjugaisons avec le glutathion et des acides glucuroniques. Ces métabolites sont ensuite excrétés dans l'urine ou par les fèces via la bile. Plusieurs conclusions génériques peuvent être soulignées concernant les PCB (Matthews et Dedrick, 1984 ; Safe, 1989).

- Les réactions d'hydroxylation sont préférablement dirigées sur la position *para*, spécialement sur le groupe phényle le moins substitué par des atomes de chlore.
- Pour les PCB les moins chlorés, les atomes de carbone en *para* des atomes de chlore sont les plus facilement métabolisés.
- Le nombre de chlore sur les deux groupes phényles est inversement corrélé au rendement de la métabolisation
- Le métabolisme semblerait être dépendant de l'espèce étudiée.

Plusieurs études *in vitro* se basant sur des enzymes CYP ont pu mettre en évidence que l'isoforme CYP2B catalysait plus particulièrement l'hydroxylation des PCB *ortho* substitués. D'autres études révèlent que l'hydroxylation des PCB non-*ortho* substitués était catalysée majoritairement par les CYP1A (Kaminsky *et al.*, 1981). De même le CYP2B1 permettait de catalyser l'hydroxylation du cycle aromatique non substitué de certains PCB, tandis que le CYP1A1 hydroxylerait de façon prépondérante les cycles aromatiques chlorés

(Kaminsky *et al.*, 1981). Ainsi l'hydroxylation des PCB serait régio-sélective. Le métabolisme des PCB dépend ainsi du passage des PCB par le foie, d'autres organes pouvant également participer à cette métabolisation. Les enzymes CYP peuvent être retrouvées dans du tissu extra-hépatique tel que les reins, le poumon, organes pouvant ainsi réaliser des hydroxylation de phase I. Si il est connu que la microflore intestinale peut déconjuguer certains métabolites des PCB, l'hydroxylation par cette dernière n'est pas un élément qui a été rapportée.

d. L'excrétion

L'excrétion s'apparente à l'élimination du Xénobiotique et de ses métabolites du corps du sujet. Plusieurs voies d'excrétion sont connues les plus fréquentes étant l'excrétion rénale ou hépatique par, respectivement, l'urine et la bile. Les PCB métabolisés utilisent ainsi ces deux voies d'excrétion. Il a toutefois été noté que la part de métabolites excrétés *via* l'urine décroît avec le nombre de substitutions retrouvés chez le congénère étudié. La voie majoritaire dès lors étant l'excrétion des PCB par les fèces *via* la bile.

Si l'hydroxylation permet une élimination facilitée, notons tout de même que les PCB peuvent également être excrétés sans être métabolisés. C'est ainsi le cas pour le PCB 153, réfractaire à la métabolisation et pour lequel environ 2% de la masse totale injectée seulement serait excrétée par les fèces et 2% comme métabolites 21 jours après injection (Birnbaum, 1983). Une seconde étude rapporterait pour ce même PCB une excrétion supérieure de 12% 40 jours après l'exposition (Mühlebach et Bickel, 1981). Cette observation se généraliserait à tous les PCB très faiblement ou faiblement métabolisables, avec une excrétion du composé parent quantitativement plus importante que des métabolites. Pour les PCB connus pour être facilement métabolisables la contribution de la métabolisation est plus nette. Ainsi moins de 10% de la dose du PCB 136 serait excrétée dans les fèces sans métabolisation 4 jours après exposition. La totalité de la charge a été éliminée à la fin de ces 4 jours ($t_{1/2\text{ vie}} = 0,44$ jour, métabolites et composés primaires) (Birnbaum, 1983). La lactation serait également une voie non négligeable mais discontinue. Certains auteurs rapportent une participation à l'excrétion totale pouvant atteindre jusqu'à 96% de la charge corporelle totale suivant l'espèce considérée (Gallenberg, Ring, et Vodcnik, 1990 ; Gallenberg et Vodcnik, 1987 ; Gallenberg et Vodcnik, 1989 ; Takagi *et al.*, 1976 ; Vodcnik, 1986).

Résumé de la Partie 3 :

L'absorption par voie orale est particulièrement efficace. Le transfert de ces polluants du milieu aqueux intestinal à l'organisme se réalise par le passage de l'épithélium par un processus passif. Une partition des PCB entre le sérum et la lymphe se déroule par la suite sous l'action du gradient de concentration de ces molécules. L'efficacité de l'absorption serait dépendante de la molécule en elle-même et suivrait son degré de chloration. Au sein de la circulation générale, les PCB circuleraient liés aux lipoprotéines plasmatiques. La distribution au sein de ces éléments dépendrait de leurs caractéristiques physiques (lipophilicité et concentrations). Les PCB sont rapidement éliminés de la circulation sanguine (en quelques minutes à quelques heures) puis sont fixés au sein des organes. Dans un premier temps, la perfusion des muscles et du foie jouerait un rôle prépondérant dans la fixation des PCB au sein de ces organes. Les PCB sont ensuite recaptés par le tissu adipeux qui constitue le réservoir majeur des PCB à moyen et long terme. La concentration au sein du foie est impactée par la métabolisation variant de façon prépondérante suivant (1) le degré de chloration (2) la position des atomes de chlore au sein de la structure aromatique. La métabolisation serait largement impactée par le profil du mélange d'exposition, les doses retenues, la physiologie de l'animal. Les métabolites formés seraient plus aisément excrétés par voie urinaire. Ainsi les organes principaux conditionnant le devenir dans l'organisme sont le foie et le tissu adipeux comme organes responsables respectivement de leur métabolisation et de leur accumulation.

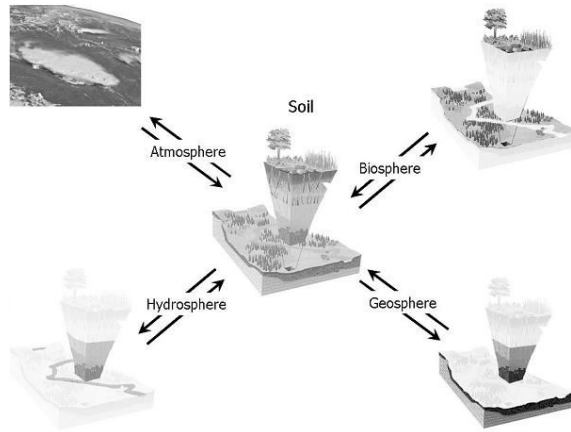


Figure 17 : Représentation schématique du sol comme interface entre les quatre compartiments biogéochimiques

Source : (Hubert, 2008)

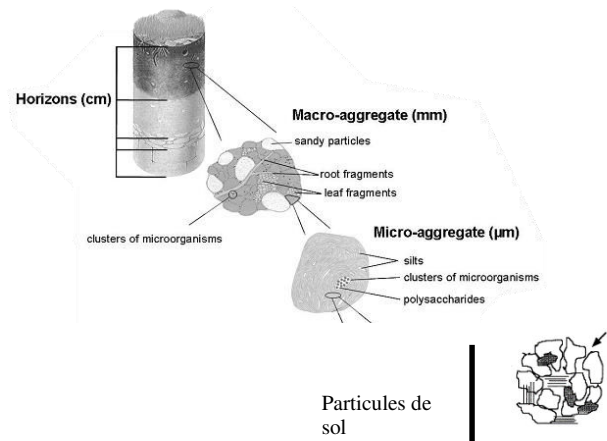


Figure 18: Représentation multi-échelle de la structure du sol : de l'horizon à la particule

Source : (Gobas, Kelly, et Arnot, 2003 ; Hubert, 2008 ; Pignatello, 1998)

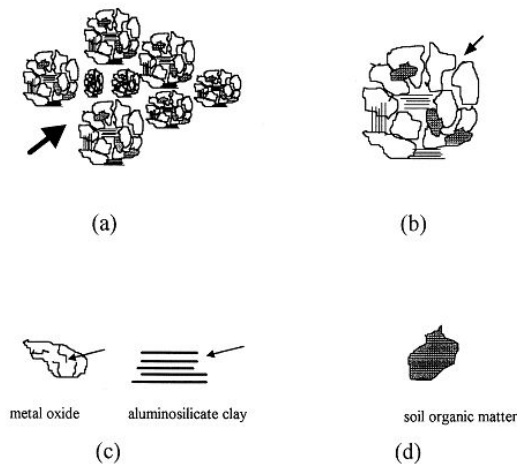


Figure 19 : Porosité multi-échelle du sol

Schéma de la structure du sol à l'échelle des particules (a) et (b) et des grains (c) et (d). L'épaisseur des flèches relève la taille relative des espaces entre agglomérats. (a) interparticules : espaces entre les agglomérats de particules : mésopores ou macropores. (b) intraparticules : espace entre les grains formant une particule. (c) micropores au sein des grains minéraux dus aux fractures, anfractuosités des matériaux et, pour l'argile, l'espace entre les feuillets lamellaires. (d) matière organique, porosité fonction de la composition et structure (cf. *infra*)

Source : (Pignatello, 1998)

Reprinted with permission from (Pignatello, 1998). ©Copyright 1998 Elsevier Science.

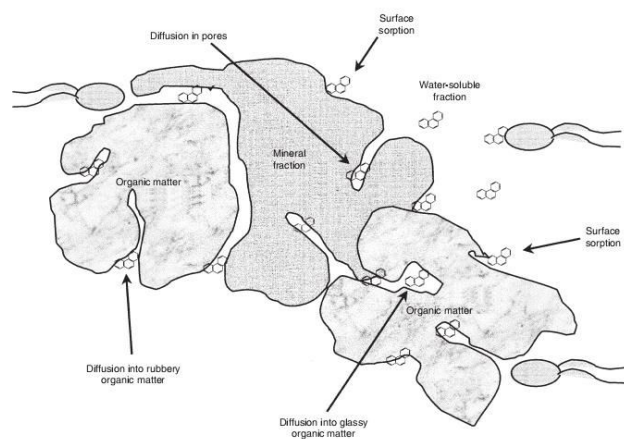


Figure 20: Évènements possibles survenant lors de la contamination d'un sol par un polluant organique

Certains évènements (adsorption de surface, diffusion, absorption) peuvent être facilités par la phase aqueuse, qui augmenterait les limites de phases et l'espace possible de diffusion.

Reprinted with permission from (Pignatello, 1998). ©Copyright 1998 Elsevier Science.

PARTIE 4:**L'incidence des constituants du sol sur la rétention des contaminants organiques**

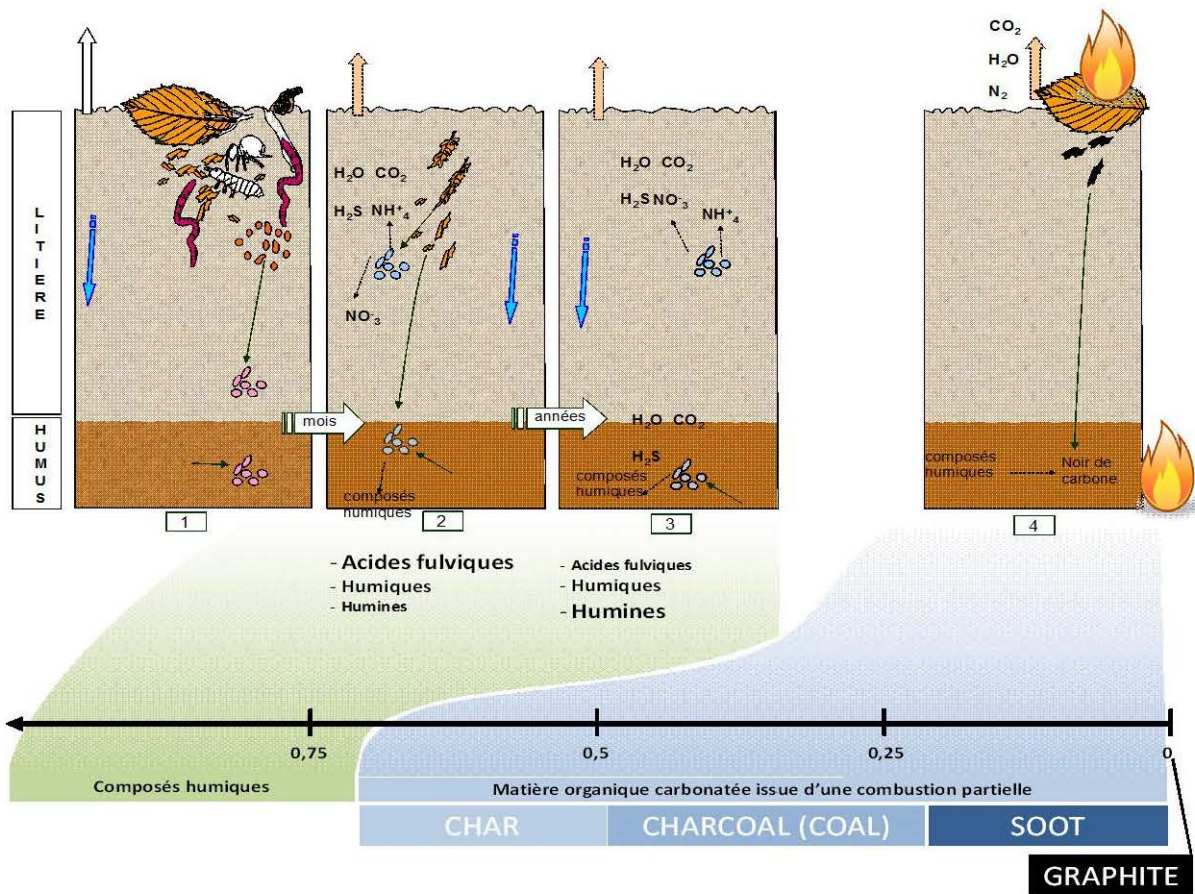
1. Facteurs de variation de la biodisponibilité

Le sol est une structure située à l'interface de quatre constituants: la géosphère, la biosphère, l'hydrosphère et l'atmosphère (Figure 17). Ces multiples interfaces en font un mélange naturel hétérogène, complexe et évolutif. La définition d'un sol peut être appréhendée selon deux angles distincts, le premier se base sur la composition du sol (approche constitutive), la seconde approche est dynamique et basée sur l'évolution du sol au cours du temps et des processus physico-chimiques et biologiques (approche pédogénétique). Ainsi, Hillel décrivait le sol comme « un système hétérogène, polyphasique, finement divisé, dispersé et poreux dans lequel la surface interfaciale par unité de volume peut être extrêmement grande » (Hillel, 1974). On soulignera tout particulièrement le caractère dispersé d'un sol, du fait d'une fraction constitutive composée de particules de très faible taille ($<5\mu\text{m}$) mais qui offrent également une très grande surface (Figure 19). Un sol est de même poreux, la porosité résultant de la structure et de l'agencement des différents composés du sol entre eux (Figure 19). Enfin dans un système hétérogène, les interfaces entre chaque constituant du sol peuvent présenter des processus physiques spécifiques comme les forces d'adsorption, de capillarité.

La structure d'un sol est un élément particulièrement important à appréhender pour le caractériser. Elle se base sur les éléments unitaires qui le composent que sont les grains de matière organique et de minéraux. Les interactions bio-physico-chimiques entre les différentes phases de ces grains aboutissent à une cimentation de grains unitaires permettant la formation de structures plus importantes : les particules (micro-agrégats). Ces particules peuvent former à leur tour des structures possédant un degré d'organisation supérieur (macro-agrégats). La structure, qui résulte de la nature des constituants et des processus physico-chimiques du sol, conditionne sa phase lacunaire. La porosité du sol et de la matière organique doit s'envisager aux différentes échelles structurales (Figure 18 et 19) et l'on doit considérer, ainsi, les espaces entre les agrégats (micro et macro) ainsi que les espaces entre les particules.

Cet espace lacunaire peut être rempli d'eau. Cette phase participera à déterminer les propriétés et forces physico-chimiques du sol (adsorption, tension superficielle, friction, capillarité) (Figure 20). Ainsi lorsque l'humidité est importante ($>70\%$) :

- les ions métalliques constitutifs hydroxylés entourent les particules du sol recouvertes de molécules d'eau, limitant leurs interactions polaires



Condensation de la matière organique : ratio molaire C/O.

Etapes d'humification de la matière organique naturelle

- 1 : fragmentation et début de digestion de la litière par les détritivores et les filaments mycéliens.
- 2 : **minéralisation primaire** – les décomposeurs aérobies et anaérobies transforment la matière organique en composés humiques (acides fulviques, humiques, humines).
- 3 : **minéralisation secondaire** - minéralisation retardée de l'humus, lessivage, fixation des acides humiques aux composés inorganiques aboutissant à l'humine.

Etapes de fabrication de la matière organique carbonée.

- 4 : **Combustion partielle** de la matière organique d'origine anthropique ou naturelle.

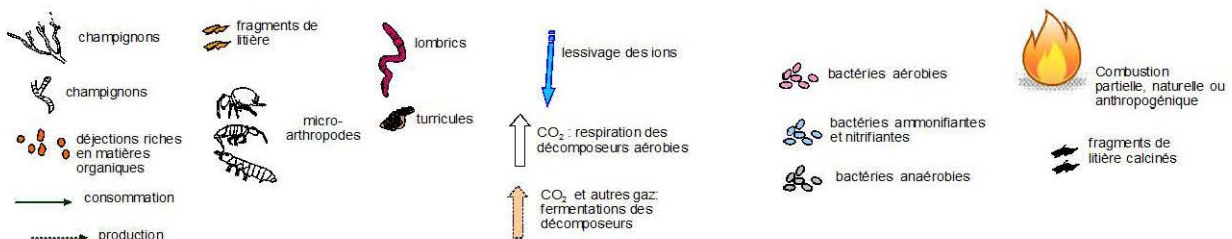


Figure 21 : Humification, évolution de la matière organique et condensation

Représentation schématique de l'humification primaire et secondaire aboutissant à la formation des acides fulviques, humiques et de l'humine. La matière organique carbonée est issue d'une combustion partielle. La condensation de la matière organique résulte du : 1) temps d'humification, l'acide fulvique peu condensée se dégradant en acide humique 2) de processus de combustion aboutissant à la formation de matière organique carbonée. (Duchaufour and Blum 2004; Gallien 2009; Cabrera Mesa and Spokas 2011).

- les micropores et les mésopores sont remplis d'eau, la surface des interfaces entre l'eau (polaire) et la matrice est ainsi augmentée.

La sorption des polluants par une matrice sol dans des conditions naturelles résulte de la succession de plusieurs évènements (*cf.* Figure 21)

- Une migration dans une phase aqueuse des méso- et micropores
- Une migration dans des phases saturées en eau
- Une fixation sur des sites de sorption à l'interface entre le milieu aqueux et la matrice sol.

L'objet de ce chapitre est de définir les paramètres du sol et leur incidence rapportée, probable ou supposée sur la biodisponibilité.

a. La Matière Organique

Elle comprend des composés humiques, des lipides et des éléments carbonés comme le noir de carbone et le kérogène. On distinguera, ainsi, une matière organique naturelle issue de la dégradation, décomposition de la fraction vivante du sol (micro et macro-organismes), d'une matière organique dont l'origine ne peut être expliquée par les seuls processus pédologiques et font intervenir des évènements géologiques, des combustions naturelles ou anthropiques.

Les composés humiques comprennent trois classes de composés que sont : les acides fulviques (hydrophiles), les acides humiques (hydrosolubles uniquement dans des conditions de pH basique) et l'humine (insoluble). Ces substances organiques complexes possèdent des poids moléculaires variables (d'une centaine à plusieurs milliers de grammes par mole). Ils sont issus de la dégradation progressive des biopolymères (oses, lipides, protéines). Cette dégradation a pour effet d'augmenter la polymérisation et l'aromaticité de ces molécules. La structure aliphatique de certaines de ces molécules aboutit à la formation de réseaux de chaînes aliphatiques structurés auxquels s'ajoutent de nombreuses fonctions organiques polaires et aromatiques. A pH usuel, les composés humiques sont poly-anioniques et se lient naturellement aux particules minérales.

La majeure partie de la matière organique provient de la dégradation de macromolécules issues de plantes ou de microorganismes. Ces macromolécules (comme la lignine ou la cellulose) sont dégradées suivant deux voies différentes :

- Une minéralisation primaire libérant des composés minéraux (comme les phosphates, l'ammonium, le dioxyde de carbone, les sulfates, etc...)
- L'humification qui aboutit à des molécules complexes qui forment « l'humus ». L'humus se dégradant en composés minéraux à cinétique lente, voire très lente.

De nombreuses études ont montré que la matière organique était la principale phase de sorption des composés organiques dans le sol, certaines rapportent d'ailleurs qu'un taux supérieur à un seuil de 0,02% en

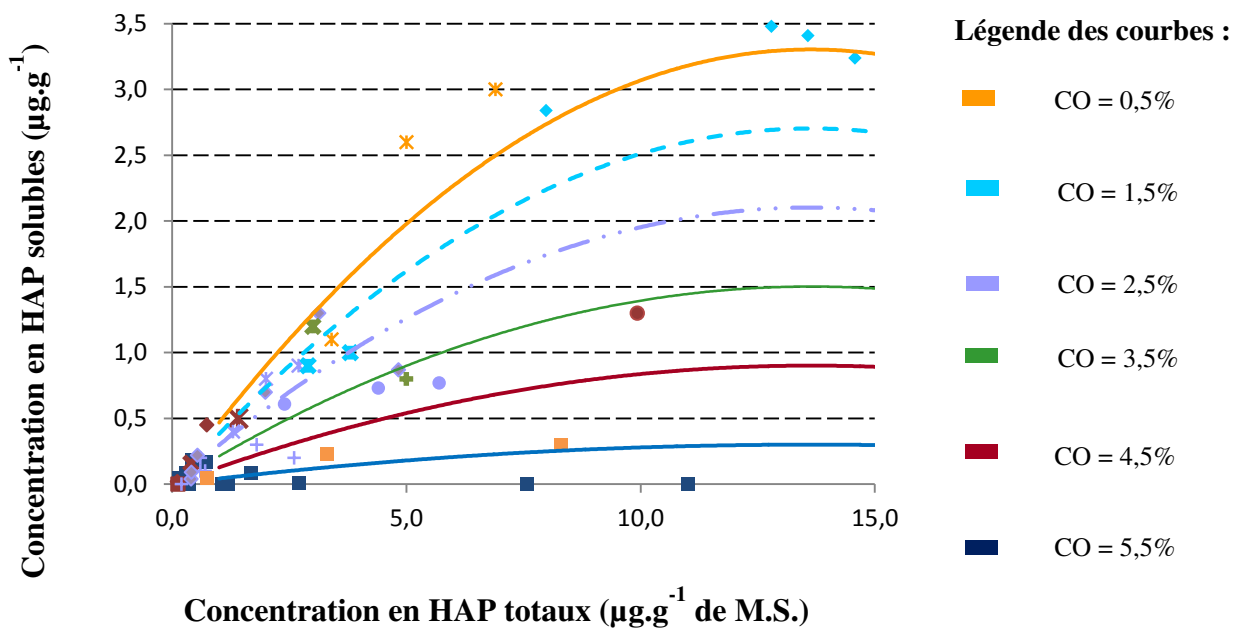


Figure 22 : Estimation de la concentration de HAP solubles en fonction de la concentration de HAP totaux dans les sols urbains ou agricoles présentant des teneurs en carbone organique (CO) variable

Analyse quantitative des données de la littérature basée sur 9 références et 29 sols. La sélection des sols urbains et agricoles a été réalisée sur 1) le taux de carbone organique, 2) la teneur en HAP afin qu'ils puissent correspondre à des niveaux environnementaux usuels. Cette sélection est rapportée par les auteurs, tout comme le test de bioaccessibilité utilisé pour chaque donnée reportée. Chaque point représente les données utilisées dans l'élaboration du modèle. La couleur reflète la teneur en carbone organique de l'échantillon, la forme dénote la source de la donnée. Les courbes représentent le modèle obtenu par la procédure GLM de Minitab pour des taux de CO fixés dont la légende est présentée à droite du graphique (Cave *et al.*, 2010 ; Grøn *et al.*, 2007 ; Khan *et al.*, 2008 ; Lu *et al.*, 2009 ; Ounnas, 2011 ; Stroo *et al.*, 2005 ; Tang *et al.*, 2006)

matière organique suffit à rendre la sorption des composés organiques majoritaire dans cette phase (Bogan et Sullivan, 2003 ; Pignatello, 1998 ; Weber Jr. *et al.*, 2001).

Le taux de matière organique (quantifié par le taux de carbone organique) est un élément important à prendre en compte et est renseigné dans de nombreuses études *in vivo*. Il a ainsi pu être corrélé à la rétention des contaminants organiques (Figure 22). La nature de la matière organique a été soulignée, de même, comme un facteur influençant les propriétés de sorption. Cependant les caractéristiques de la matière organique responsables d'une sorption plus forte demeurent peu connues et font l'objet de controverses.

Le degré d'aromaticité et d'aliphaticité de la matière organique, notamment des substances humiques, ont été pointés comme des paramètres pouvant être corrélés avec une sorption importante des composés organiques. Tričković *et al.* (2007) ont montré par l'utilisation d'un ratio atomique H/C une corrélation entre l'aliphaticité et la quantité de composés organiques (le coefficient de partition carbone organique/eau, le K_{oc} du pentachlorobenzène) sorbée par les substances humiques (le degré d'aliphaticité est important lorsque le ratio H/C est le plus proche de 2). Une corrélation similaire a été retrouvée dans des études précédentes pour des HAP (Chefetz *et al.*, 2000 ; Mao *et al.*, 2002). En revanche, d'autres études rapportent une corrélation positive entre la quantité sorbée et le degré d'aromaticité par l'utilisation du ratio atomique O/C (le degré d'aromaticité augmente quand le rapport O/C diminue) (Chin, Aiken, et Danielsen, 1997 ; Perminova, Grechishcheva, et Petrosyan, 1999). Dans les substances humiques, l'humine semblerait jouer un rôle de réservoir particulièrement important des polluants organiques dans les sédiments et le sol (Guthrie et Pfaender, 1998 ; Nam et Kim, 2002 ; Tričković *et al.*, 2007). Il semblerait que ce rôle de réservoir soit dû à la conformation particulière de l'humine et à l'existence de sites particuliers d'interaction (Gunasekara et Xing, 2003 ; Malekani, Rice, et Lin, 1997). Ainsi, il se dégagerait que la conformation de la matière organique est un des éléments clé dans la compréhension de la quantité de composés organiques sorbés par le sol. Cette conformation résulterait de la composition de la matière organique, en particulier pour l'humine, et ses caractéristiques physiques (aliphaticité, aromaticité, voir polarité). Toutefois on peut se demander si l'importance de la quantité de composés organiques sorbée est corrélée positivement avec la capacité de rétention du sol. De même ces données, provenant essentiellement de la matière organique d'origine sédimentaire, devraient être confrontées aux données issues de la matière organique en provenance du sol et à des études de biodisponibilité *in vivo*.

Peu d'études ont été réalisées sur des modifications de biodisponibilité observées sur des organismes évolués (mammifères) et se basant sur la problématique de la composition de matière organique dans le sol. Concernant les éléments carbonés du sol, deux études ont été menées sur un modèle ver de terre (*E. foetida*) par Chai *et al.* (2011) et Paul and Ghosh (2011) (Figure 23 et 24) montrant que l'addition de charbon actif permet de diminuer jusqu'à 10 fois la biodisponibilité des dioxines, suivant la nature du charbon actif et sa concentration. La diminution de la biodisponibilité des contaminants par le charbon actif est également utilisée de manière empirique en médecine humaine et vétérinaire lors d'intoxications aiguës, utilisant ainsi

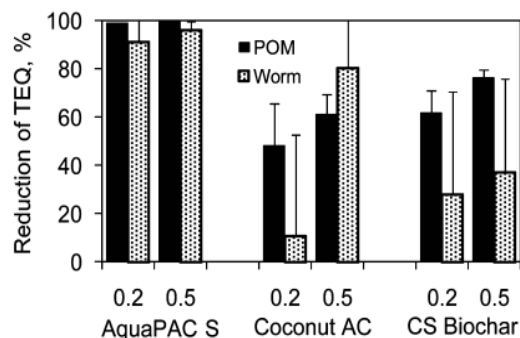


Figure 23 : Réduction de la disponibilité et de la biodisponibilité suivant la nature et la quantité de charbon actif

Un sol a été amendé avec 3 charbons actifs différents à 0,2% ou 0,5% de la masse sèche totale. La réduction en Facteur de Toxicité Équivalente a été calculée sur la base des réplicas pour chaque test, les barres d’histogrammes représentent la réduction moyenne calculée tandis que les barres d’erreur représentent l’erreur standard à la moyenne. Deux tests ont été utilisés, un test de disponibilité sur membrane en polyoxyméthylène (POM) après un contact de 120 jours (n=3), et un test de biodisponibilité sur *E. foetida* après 28 jours de contacts (n=4). (Chai *et al.*, 2011)

Reprinted with permission from (Chai *et al.*, 2011). ©Copyright 2011 American Chemical Society

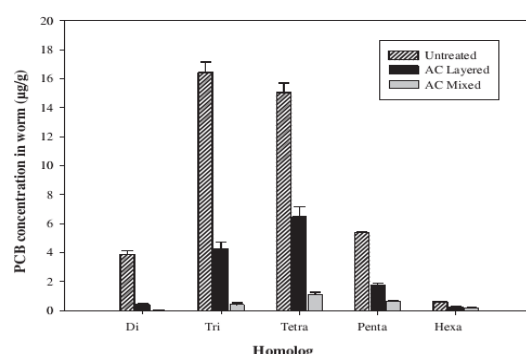


Figure 24 : Concentrations en PCB dans les tissus d’*E. foetida* après 28 jours d’exposition à des sédiments artificiels contaminés artificiellement

Les histogrammes représentent la moyenne, la barre d’erreur, l’erreur standard à la moyenne. Les concentrations sont exprimées par g de poids frais. Les trois sédiments étudiés ont été préparés suivant les directives de l’ASTM (2004). Les 2 sols contenant le charbon actif ont été amendés 1 jour avant l’exposition soit en mixant manuellement (*AC mixed*) soit sans mixage (*AC layered*).

Reprinted with permission from (Paul et Ghosh, 2011). ©Copyright 2011 Elsevier Ltd.

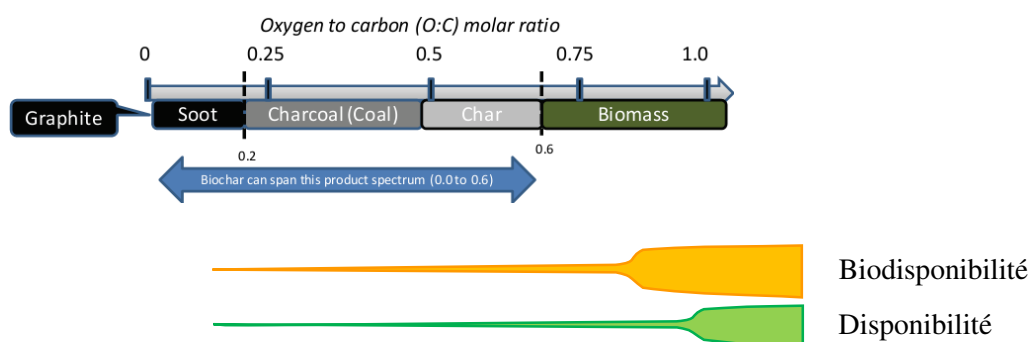


Figure 25: Condensation de la matière organique et effet supposé sur la biodisponibilité

La largeur de la bande reflète la grandeur relative de la biodisponibilité (en orange) et la disponibilité (en vert) suivant la condensation de la matière organique ayant sorbée les contaminants. La sorption des contaminants organiques est d’autant plus forte que la matière organique est condensée. Toutefois la relation liant la force de sorption, la disponibilité, la biodisponibilité et la condensation reste peu décrite. La relation liant la condensation et la biodisponibilité est schématique et reflète les hypothèses se dégageant de la bibliographie.

Source : (Cabrera Mesa et Spokas, 2011)

les fortes capacités d'adsorption de ce composé. Les substances humiques, de par leur capacité de sorption élevée ont aussi été utilisées dans des médecines traditionnelles comme la médecine chinoise. Ainsi, si les capacités de sorption de l'acide fulvique ont pu être observées, la haute biodisponibilité des composés organiques s'y sorbant, et l'augmentation de leur solubilisation également (Agarwal, Aqil, et Anwer, 2007 ; Anwer *et al.*, 2009 ; Mirza, Agarwal, et Iqbal, 2011). Ces études confirment que non seulement les substances humiques peuvent sorber les composés organiques, mais aussi les rendre biodisponibles à l'instar des adjuvants utilisés dans la formulation des préparations pharmaceutiques. Ces propriétés des acides fulviques ont de même été étudiées en présence de polluants métalliques. Ainsi, une diminution de la biodisponibilité du Cd dans de l'eau de boisson contenant des acides fulviques a pu être remarquée. Toutefois cette diminution de biodisponibilité n'a pu être expliquée par une diminution de l'absorption. En revanche, une diminution de toxicité a pu être mise en évidence (Corami *et al.*, 2007 ; Lind et Glynn, 1999). Cette dualité de comportement de la matière organique a été soulignée par Cabrera Mesa et Spokas (2011) qui l'expliquent par le degré de condensation de la matière organique. Cette condensation aboutirait à une plus forte rétention et donc une plus faible biodisponibilité des éléments adsorbés par la fraction de la matière organique amorphe et carbonée (Figure 25).

Ainsi, la composition de la matière organique est un élément majeur intervenant dans la biodisponibilité des composés qui y sont sorbés. Si des substances carbonées semblent, par leur capacité d'adsorption élevée, diminuer la biodisponibilité des composés organiques chez des organismes dont l'absorption digestive est simple, leur influence chez les mammifères concernant les PCB est peu décrite.

D'autres facteurs semblent influencer sur la biodisponibilité des composés organiques dans le sol, tels que la fraction minérale. Cette fraction semblerait jouer un rôle important dans la sorption des contaminants.

b. La phase minérale

Si la matière organique du sol est souvent considérée comme la phase principale expliquant la sorption et le rôle de réservoir du sol pour les composés organiques, la phase minérale semble peu concourir directement à cette sorption (Appert-Collin *et al.*, 1999 ; Murphy, Zachara, et Smith, 1990). Or la phase minérale du sol représente une part quantitativement importante du sol (argile, sable, gravier, minéraux ...), soit de 90 à 99% de la masse du sol (hormis les sols très organiques comme les tourbes) (Calvet, 2005).

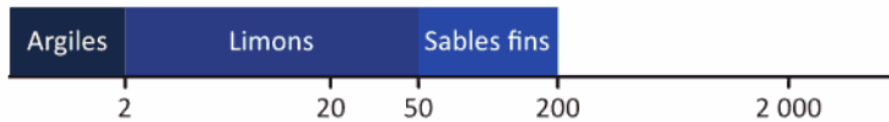


Figure 26 : Granulométrie selon l'AFNOR, 1998

L'échelle représente le diamètre des particules inorganiques qui est associé à la classe granulométrique décrite dans la directive NF X 31-107 de l'AFNOR, 2003. Source : (Cauchi et Vignoles, 2011)

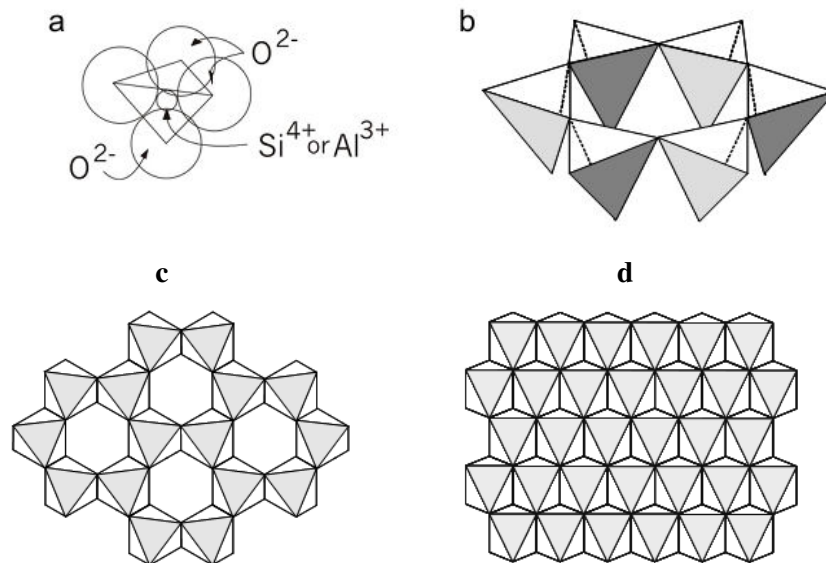


Figure 27 : L'argile : du tétraèdre et de l'octaèdre au feuillet

a) *structure du tétraèdre* : quatre oxygène entouré d'un cation central Si^{4+} et/ou Al^{3+} et/ou Fe^{3+} b) *structure hexagonale de la couche tétraédrique* : 3 oxygènes sur 4 forment un plan hexagonal. Cette structure est caractéristique des phyllosilicates c) *couche trioctaédrique* : elle est composée d'octaèdres formés par 6 oxygènes ou groupements hydroxyles contenant en leur centre un cation central Al^{3+} et/ou Fe^{3+} et/ou Mg^{2+} et/ou Fe^{2+} . Lorsque 3 oxygènes ou anions sont partagés entre 3 tétraèdres la couche est qualifiée de trioctaédrique. d) *couche dioctaédrique* : Cette couche est composée d'octaèdres partageant 2 oxygènes ou groupement hydroxyles. Source : (Hubert, 2008)

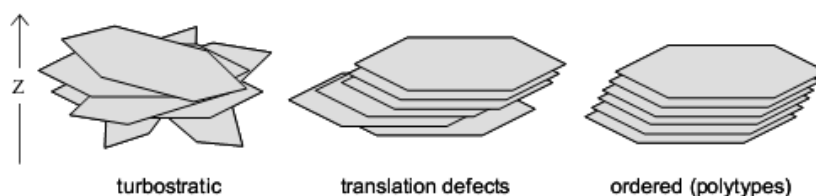


Figure 28 : Disposition des feuillets d'argile des couches tétraédriques

Les hexagones représentent le plan hexagonal d'oxygènes (cf. Figure 27-c). L'empilement représente schématiquement la disposition des couches tétraédriques les unes avec les autres et retrouvées chez les phyllosilicates. Source : (Hubert, 2008)

On considère deux catégories de minéraux (Calvet, 2005) :

- les minéraux primaires (quartz, micas, ...) qui sont issus d'une roche primaire et qui ont été extraits et fragmentés plus ou moins finement.
- les minéraux secondaires (minéraux argileux, oxydes métalliques) : ils sont soit l'aboutissement de l'altération des minéraux primaires ou issus de la formation par précipitation de solides (minéraux de néogène).

La taille des particules est variée et plusieurs classes granulométriques (AFNOR, 2003), peuvent être distinguées : l'argile (diamètres moyen $< 2\mu\text{m}$), les limons (entre 2 et $50\mu\text{m}$) et les sables (de $50\mu\text{m}$ à 2mm) (Calvet, 2005). (Figure 17, Figure 26 à 28)

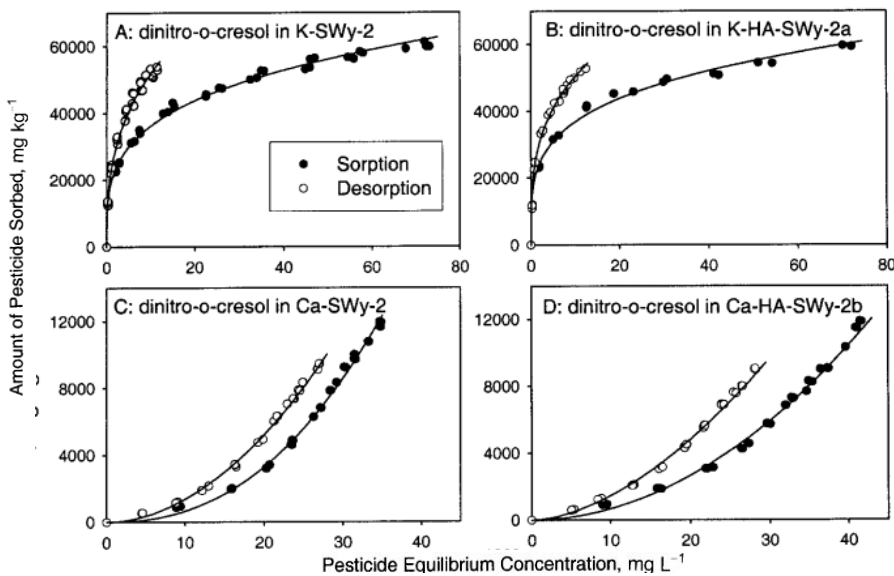
L'argile telle que définie en pédologie par ses propriétés granulométriques ne prend pas en compte les caractéristiques minéralogiques qui lui sont pourtant propres. Ainsi l'argile est constituée généralement de phyllosilicates mais aussi d'autres matériaux comme, par exemple, de la matière organique. Les phyllosilicates peuvent être définis comme des « minéraux contenant une couche tétraédrique continue en deux dimensions de composition T_2O_5 (T = Si, Al, Be...), les tétraèdres étant liés par la mise en commun de trois de leurs sommets (oxygènes basaux) ; les sommets libres pointant tous dans la même direction (sommets correspondant aux oxygènes apicaux). Dans l'unité structurale, la ou les couches tétraédriques sont liées à une couche octaédrique, et/ou à un groupe de cations et/ou à des cations isolés »² (Guggenheim *et al.*, 2006).

Ainsi, la phase minérale contient, notamment, des composés métalliques qui pourraient prendre part à l'adsorption des polluants organiques dans le sol. De surcroît, la phase minérale joue un rôle particulièrement important dans la structure du sol et notamment sur la surface de contact possible entre la matière organique et les polluants organiques. La nature de l'argile influera sur la configuration des complexes argilo-humiques (Hwang, Wade, et Sericano, 2003 ; Hwang et Cutright, 2002 ; Hwang et Cutright, 2004). La phase minérale influe de même sur la rétention de la matière organique dans le sol et donc sur la qualité et quantité de cette dernière, tout comme sur l'environnement physico-chimique proche (Nieman *et al.*, 1999 ; Piatt et Brusseau, 1998).

Concernant des pesticides polaires l'influence de la phase minérale et notamment de l'argile dans la rétention de ces contaminants semble particulièrement importante. Ainsi plusieurs auteurs (Cabidoche *et al.*, 2009 ; H. Li *et al.*, 2003 ; Murano *et al.*, 2008) ont testé l'influence de la matière organique dans la sorption des pesticides par des argiles. Dans cette optique, Li *et al.* (2003) ont montré que la nature électro-chimique de l'argile et son association avec différents ions impactait (1) la sorption, alors que la présence d'acides

² « Clay minerals belong to the family of phyllosilicates and contain continuous two-dimensional tetrahedral sheets of composition T_2O_5 (T = Si, Al, Be...) with tetrahedra linked by sharing three corners of each, and with a fourth corner pointing in any direction. The tetrahedral sheets are linked in the unit structure to octahedral sheets, or to groups of coordinated cations, or individual cations. » (Guggenheim *et al.*, 2006)

I-



II-

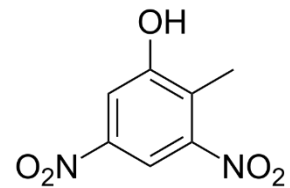
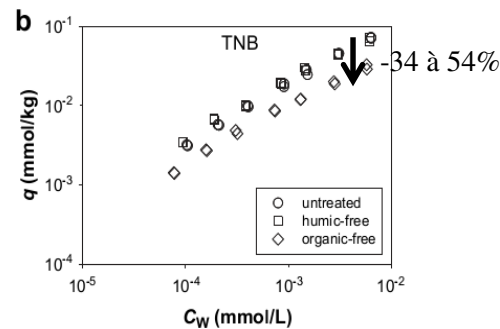
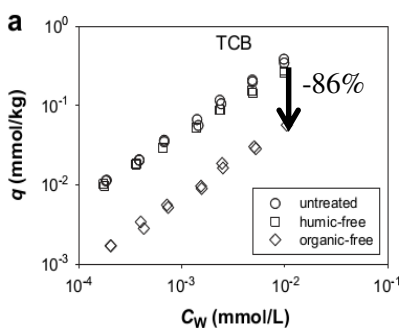


Figure 29 : Isotherme de sorption/désorption d'un pesticide : le 4,6-dinitro-o-cresol suivant (1) la nature électrochimique de l'argile, (2) la présence ou non d'acides humiques

Les smectites de référence sont présentées à gauche (I-A et I-C), la fraction comprenant des acides humiques se trouvant à droite (I-B et I-D). Les deux smectites ne diffèrent que par leur cation, une possédant un cation potassium (K^+ , I-A et I-B), une autre possédant un cation Calcium (Ca^{2+} , I-C et I-D). L'abscisse correspond à la concentration à l'équilibre du 4,6-dinitro-o-cresol dans la solution (en $mg.L^{-1}$). L'ordonnée correspond à la quantité de pesticide sorbée (en $mg.Kg^{-1}$). Les marqueurs pleins correspondent à la sorption, les creux à la désorption. La figure II- représente la formule du 4,6-dinitro-o-cresol. Source : (H. Li *et al.*, 2003).

Reprinted with permission 2003, Published in Soil Sci. Soc. Am. J.67:122–131.

I-



II-

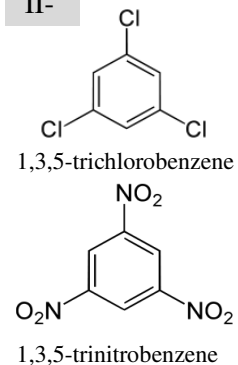


Figure 30 : Isotherme de sorption de deux composés organique : le 1,3,5-trichlorobenzene (TCB), apolaire, et du 1,3,5-trinitrobenzene (TNB), polaire, dans un sol standard après extraction séquentielle de la matière organique

L'abscisse correspond à la concentration à l'équilibre C_w des composés dans la solution (en $mmol.L^{-1}$). L'ordonnée correspond à la concentration dans le solide du composé (en $mmol.Kg^{-1}$). Le sol de référence est matérialisé par les marqueurs ronds creux (o). Ce même sol traité par extraction des substances humiques (acides fulviques et acides humiques) est matérialisé par des carrés creux (\square). Enfin le sol dépourvu de matière organique (dont le noir de carbone) est matérialisé par des losanges (\diamond). Le pourcentage de réduction après retrait total de la matière organique est associé à la flèche. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre le sol de référence et le sol dépourvu de substances humiques. L'encart I-a correspond à l'isotherme de sorption du TCB, le I-b correspond à celui du TNB. La figure II- montre les formules du TCB et TNB.

Reprinted with permission from : (Shi, Ji, et Zhu, 2010), © copyright Elsevier Ltd 2010

humiques ne la modifiait que peu, (2) que la nature de l'ion couplé à l'argile impactait la sorption et la désorption des pesticides (Figure 29). Les ions métalliques présents dans l'argile sont principalement du fer, de l'aluminium, du manganèse, du sodium et du potassium qui, par leur surface libre, sont complexés par des groupements hydroxyles. Cette complexation limiterait leur affinité pour les composés peu polaires comme les PCB à des pH proches de la neutralité. Concernant le chlordécone il semblerait que la nature de l'argile joue un rôle important dans la rétention de ces polluants et, ainsi, sur la persistance dans l'environnement pendant plusieurs siècles de ces molécules (Cabidoche *et al.*, 2009).

Toutefois il semblerait que la phase minérale et la nature de l'argile ne jouent que faiblement sur la sorption et la désorption des composés organiques très peu polaires (comme les HAP et les PCB) (Shi, Ji, et Zhu, 2010) (Figure 30). D'autres études soulignent que l'adsorption des contaminants hydrophobes par la phase minérale n'est faible que si l'argile n'est pas recouverte d'acides humiques (Murphy, Zachara, et Smith, 1990). L'incidence de la phase minérale seule et de sa composition n'a fait l'objet que de peu d'investigations. De nombreuses études portant sur l'effet de l'argile se basent sur des sols dont la teneur en matière organique est supérieure au seuil de 0,5%, compliquant l'analyse des variations obtenues. Toutefois il a été montré que des variations de teneur en matière organique pouvaient modifier la biodisponibilité des contaminants organiques dans le sol (Pu, Carlson, et Lee, 2003 ; Pu *et al.*, 2006 ; Pu *et al.*, 2004). Outre sa composition en elle-même, la microporosité induite par la phase minérale serait un facteur important dans la rétention des contaminants. Les propriétés des argiles qui ont conduit à modifier cette porosité par les interactions avec les composés organiques est une hypothèse qui a été avancée et conditionnerait, dans les études *in vivo*, l'addition de certains types d'argile dans le sol (Saghir *et al.*, 2007 ; Shi, Ji, et Zhu, 2010). Les argiles gonflantes (Montmorillonite, smectite par exemple) en présence de solvant approprié permettraient d'augmenter l'espace interfeuillet (entre 1,4 à 4 nm) (Cornelissen *et al.*, 1998).

Il semblerait, ainsi, que l'argile puisse intervenir dans la porosité du sol par (1) les propriétés d'interaction avec les autres phases (2) sa structure et les interactions entre les feuillets

2. Les caractéristiques physico-chimiques du sol

a. Les conditions d'hydratation et électrochimiques du sol

Les conditions électrochimiques, le pH et l'hydratation demeurent des facteurs importants à prendre en compte dans l'évaluation de la biodisponibilité de la matière organique en solution (Gallé *et al.*, 2005). Ils demeurent cependant des facteurs liés physiquement et peu d'études approfondissent leur impact sur la biodisponibilité des composés organiques dans le sol. On soulignera également que ces conditions électrochimiques ne peuvent que difficilement être dégagées de la composition du sol, rendant l'évaluation de cet effet seul sur la disponibilité des composés organiques difficile. En effet la matière organique, les carbonates et l'hydroxyde d'aluminium jouent tous les trois un rôle de tampon pouvant limiter la variation

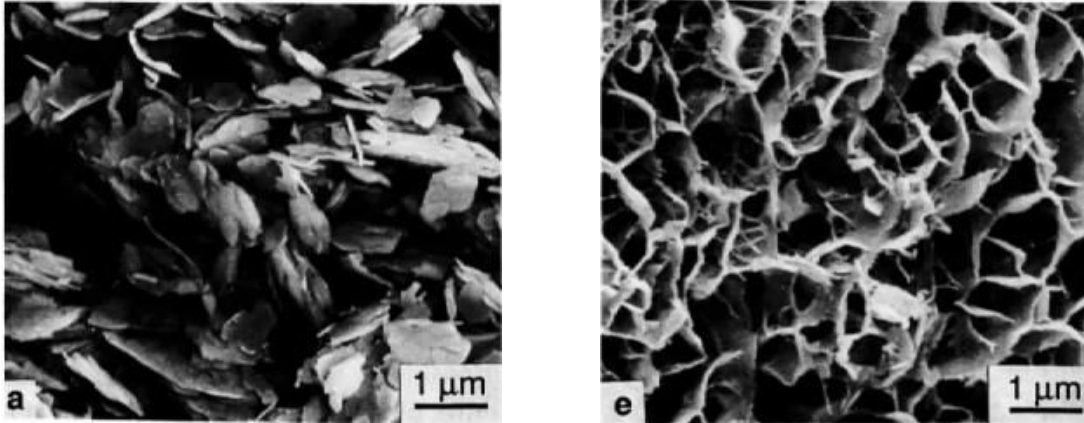


Figure 31: Microporosité d'une argile lamellaire (a) et gonflante (b) au microscope à balayage électronique à basse température

L'espace interfeuillet conditionne la microstructure de l'argile, elle dépend de la nature de l'argile et des conditions électrochimiques associées (Chenu, 1993).

Reprinted with permission from : (Chenu, 1993), © Copyright 1993 Published by Elsevier B.V.

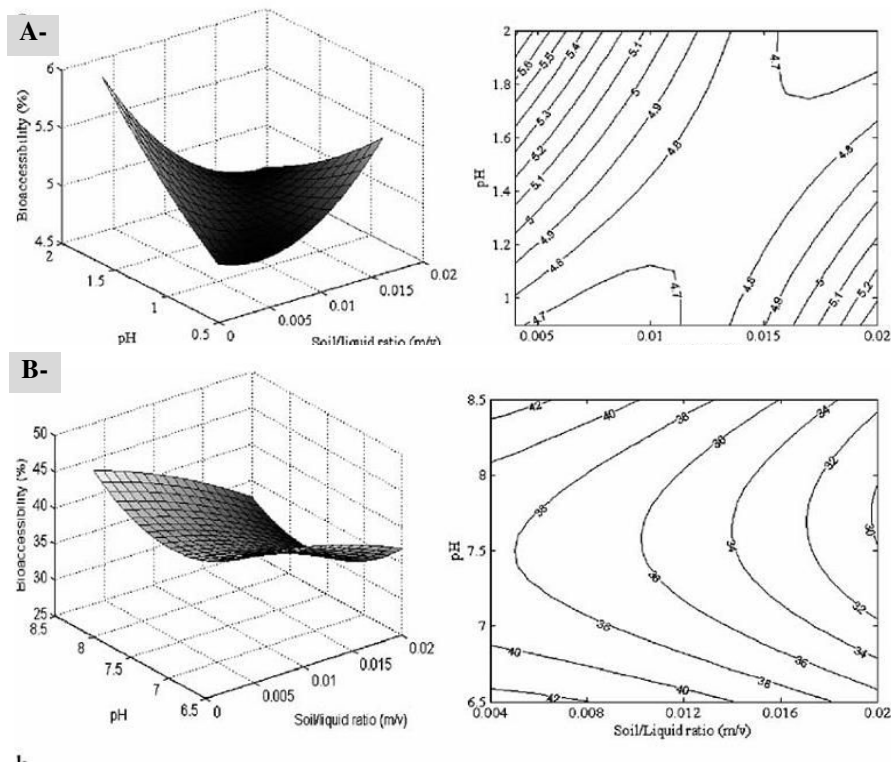


Figure 32 : Variation de la bioaccessibilité des HAP en fonction du pH et du ratio Solide/Liquide lors des phases (A) gastrique (B) intestinale

Représentation en 3D (à gauche) et en 2D *via* des isoformes de bioaccessibilité (à droite). Les représentations graphiques sont issues d'une modélisation basée sur les paramètres de pH, temps d'incubation, ratio solide/liquide et l'accessibilité calculée. Une méthode statistique (Central Composite Design) est employée et la significativité de la relation a été testée par ANOVA. Les graphiques ont été obtenus par le tracé de la relation *via* MATLAB (Lu *et al.*, 2009).

Reprinted with permission from : (Lu *et al.*, 2009), Copyright © 2008, Springer Science+Business Media B.V.

de pH. Il semblerait, toutefois, que la biodisponibilité de certains composés organiques (HAP) puisse être altérée par les conditions de pH. Ainsi Jonsson *et al.* (2007) ont montré l'importance du pH dans la biodégradation des HAP en montrant une corrélation négative entre le pH et l'efficacité de dégradation de ces polluants via le processus de minéralisation primaire bactérienne. En considérant les données issues de validation de tests de bioaccessibilité par Lu *et al.* (2009), on peut souligner qu'un pH de 7,5 permettait une faible diminution de la bioaccessibilité de ces HAP (Figure 32).

Il a été montré au travers de l'étude des propriétés électrochimiques des mélanges que la présence d'oxydes (d'aluminium ou de manganèse) pouvait bloquer la biodégradation bactérienne des HAP (Jonsson *et al.*, 2007). De même les conditions électrochimiques influent sur la sorption de la matière organique en solution (Gallé *et al.*, 2005). En effet il semblerait qu'une variation de pH influe sur les forces de sorption liant la matière organique aux composés organiques. Ces modifications pourraient s'expliquer par des modifications de propriétés de polarité de la matière organique. Ainsi une diminution du pH engendrerait une baisse de la polarité en conséquence de la protonation de la matière organique (Ping *et al.*, 2006 ; Schlautman et Morgan, 1993). Il semblerait également que les forces de sorption et les quantités sorbées soient plus importantes à pH bas qu'à pH élevé (Laor, Strom, et Farmer, 1999 ; Ping *et al.*, 2006 ; Raber *et al.*, 1998 ; Schlautman et Morgan, 1993 ; Yang *et al.*, 2010).

La sorption et de désorption des contaminants sur la matière organique seraient dépendantes de l'eau interstitielle. Ce rôle est potentialisé par l'effet colloïde apporté par la matière organique en suspension (bactéries et matière organique dissoute) (Sheng *et al.*, 2010). Ces éléments permettraient de prendre en charge les composés organiques hydrophobes en augmentant leur solubilité apparente dans l'eau (Alcántara *et al.*, 2009 ; Choi, Lee, et Osako, 2009 ; Grolimund et Borkovec, 2005 ; De Wiele *et al.*, 2004). Assez peu d'études sur l'humidité du sol et son influence sur la force de rétention des composés organiques ont été réalisées.

Les cycles de déshydratation-réhydratation du sol sont connus comme une source de variation de la disponibilité des contaminants environnementaux. Ceci est particulièrement important pour les contaminants métalliques où le séchage du sol engendre des variations importantes de leur biodisponibilité (Furman, Strawn, et McGeehan, 2007) (Figure 33). Le séchage aurait une incidence importante sur les conditions électrochimiques du sol (notamment sur le potentiel redox) et induirait une oxydation qui aboutirait *in fine* à une réduction ou une augmentation de la bioaccessibilité dépendant de l'ion métallique testé (Furman, Strawn, et McGeehan, 2007). Concernant les polluants organiques il a pu être mis en évidence pour des pesticides que de tels cycles permettaient une remobilisation de leur fraction sorbée associée à une remobilisation de la matière organique soluble (Jablonowski *et al.*, 2012) (Figure 29).

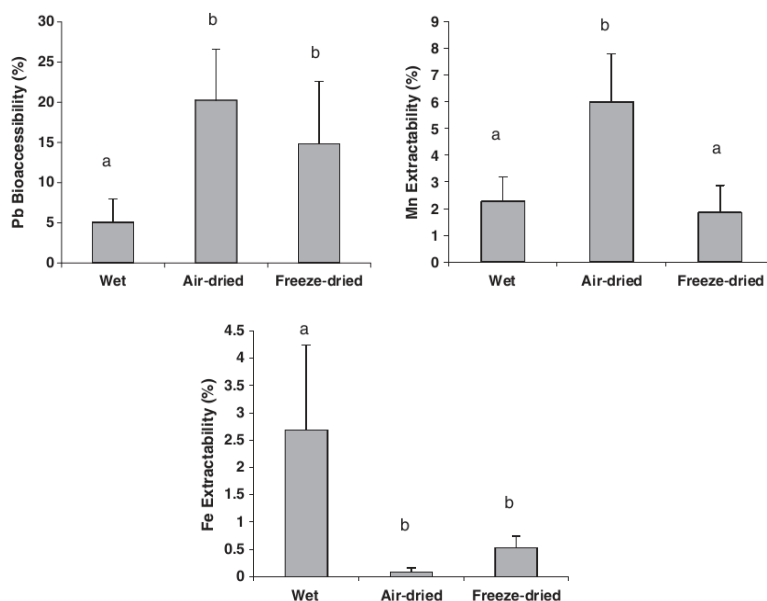


Figure 33 : Variation de bioaccessibilité du plomb (Pb), du manganèse (Mn) et du fer (Fe) suivant le traitement de conditionnement du sol utilisé

Un test de bioaccessibilité (*Waterfowl-Physiologically based*) a été employé afin d'obtenir les concentrations extraites en Pb, Mn et Fe. Celles-ci ont été rapportées aux concentrations totales retrouvées dans le sol. 4 répétitions ont été effectuées. Les histogrammes représentent la moyenne des valeurs trouvées et la barre d'erreur, l'erreur standard à la moyenne. Une ANOVA a ensuite été réalisée. Deux mêmes lettres représentent des traitements non significativement différents ($p < 0,05$)

Reprinted with permission from : (Furman, Strawn, et McGeehan, 2007), Copyright © 2007 ASA, CSSA, SSSA

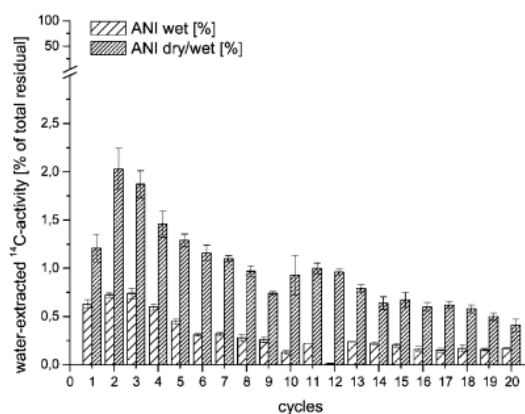


Figure 34 : Variation de l'extraction d'un pesticide polaire, l'anilazine, suivant le nombre de cycles de séchage-réhydratation

L'humidification consista en une addition d'eau pour un volume de sol donné (1:2). Le séchage a été effectué par étuvage à 45°C. Les moyennes sont représentées par les barres d'historgramme, les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard à la moyenne (n=3). L'ordonnée représente l'activité radiographique de la solution extraite en %.

Reprinted with permission from : (Jablonowski *et al.*, 2012), Copyright © 2012 SETAC

Les cycles abiotiques de séchage-réhumidification sont de même avancés pour expliquer la disparition plus rapide de HAP (anthracène) au sein des couches superficielles du sol (0-2cm vs 2-8cm et 8-15cm), cette remise en circulation des composés organiques les rendrait plus enclins à subir une photodégradation dans les couches superficielles (Núñez *et al.*, 2009).

Il a pu être montré que l'utilisation de techniques de séchage poussées (passage à 330 bar) sur le sol avant contamination engendrait une augmentation significative de l'extractabilité de l'atrazine, de même qu'un séchage d'un sol ayant subi une contamination ancienne semble augmenter l'extractabilité de ce composé (White *et al.*, 1997). Plusieurs hypothèses ont été avancées, notamment qu'un remaniement de la structure du sol par les cycles de séchage et réhydratation pourrait diminuer à terme la surface d'accrochage des contaminants organiques dans le sol (Makeyeva, 1989). Ceci pourrait entraîner une altération de la porosité du sol (Thomson et Stoessell, 1985), réduisant ainsi la possibilité pour les polluants organiques de se fixer sur des sites d'absorption spécifiques. Toutefois le peu de recul sur l'influence de l'humidité, l'absence de données concernant les PCB et le peu de variation sur l'extractabilité de ces composés (Kottler, White, et Kelsey, 2001) constitueraient un faisceau d'indices qui pourrait souligner le peu d'impact des processus de séchage utilisés dans les protocoles de biodisponibilité. Ces données n'étant pas corroborées avec des protocoles *in vivo*, on peut se demander si les observations peuvent être transposées dans le cadre d'une ingestion de PCB du sol. De plus les techniques de séchage par pression élevée employées dans ces études sont peu reprises dans les études de biodisponibilité *in vivo*.

i. Le vieillissement du sol et de la contamination

Le vieillissement du sol est un paramètre de la variation de la biodisponibilité par diminution de la fraction désorbée des contaminants. De nombreuses études *in vivo* et *in vitro* confirment l'impact du vieillissement sur la biodisponibilité chez de multiples espèces, des microorganismes (bactéries), lombrics (*E. foetida*), aux mammifères et cela pour plusieurs composés organiques et plusieurs voies d'exposition.

Pour les HAP par exemple de nombreuses études ont souligné une diminution de la biodisponibilité avec le vieillissement de la contamination sur un modèle basé sur *E. foetida* (Kelsey et Alexander, 1997 ; Kelsey, Kottler, et Alexander, 1996 ; Tang *et al.*, 1998 ; Vlčková et Hofman, 2012 ; White *et al.*, 1997 ; White *et al.*, 1997). L'implication de la bioremédiation bactérienne pour ces molécules a montré que la disponibilité des HAP pour les bactéries diminuait suivant la durée du vieillissement de la contamination, alors que cette fraction séquestrée était en partie biodisponible pour les vers de terre (Tang *et al.*, 1998). Le processus de vieillissement se retrouverait pour de nombreux composés organiques où une diminution de la toxicité a pu être observée pour le DDT et la dieldrine sur plusieurs diptères (Robertson et Alexander, 1998). La diminution de la toxicité induite par le vieillissement variait suivant les espèces de diptères exposés (Robertson et Alexander, 1998).

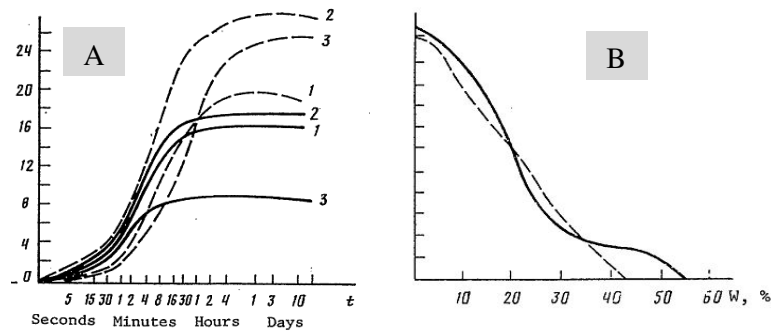


Figure 35 : Différence de structure d'un sol séché une première fois et une seconde fois

A- mesure du gonflement relatif en % en fonction du temps d'humidification B- mesure du rétrécissement relatif lors de l'étape de séchage d'un sol (*Meadow soil*).

Les traits pleins représentent des données acquises lors du premier cycle d'humidification – séchage, les pointillés lors du deuxième cycle. Les chiffres représentent les horizons du sol analysé : 1 : 5-20cm ; 2 : 2-30cm ; 3 : 35-60cm

Source : (Makeyeva, 1989).

Aging period (d)	Wetting/drying cycles	% Recovery	
		Mild extractant	Total
0	NA ^b	107A	107A
30	0	53.8B	85.3B
	4	43.8C	73.4C
0	NA	96.8A	96.8A
31	0	68.3B	99.0A
	2	54.3C	83.7B

Tableau 8 : Effet des cycles de séchage et réhydratation d'un sol sur la disponibilité de l'atrazine

La disponibilité a été évaluée via une extraction dans un mélange éthanol/eau. Les pourcentages d'Atrazine retrouvés lors de l'extraction par solvant sont présentés dans le tableau. Une extraction complète a de même été réalisée. Les valeurs suivies par une même majuscule dans une ligne et les valeurs suivies par une minuscule dans une colonne ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$) (Kottler, White, et Kelsey, 2001).

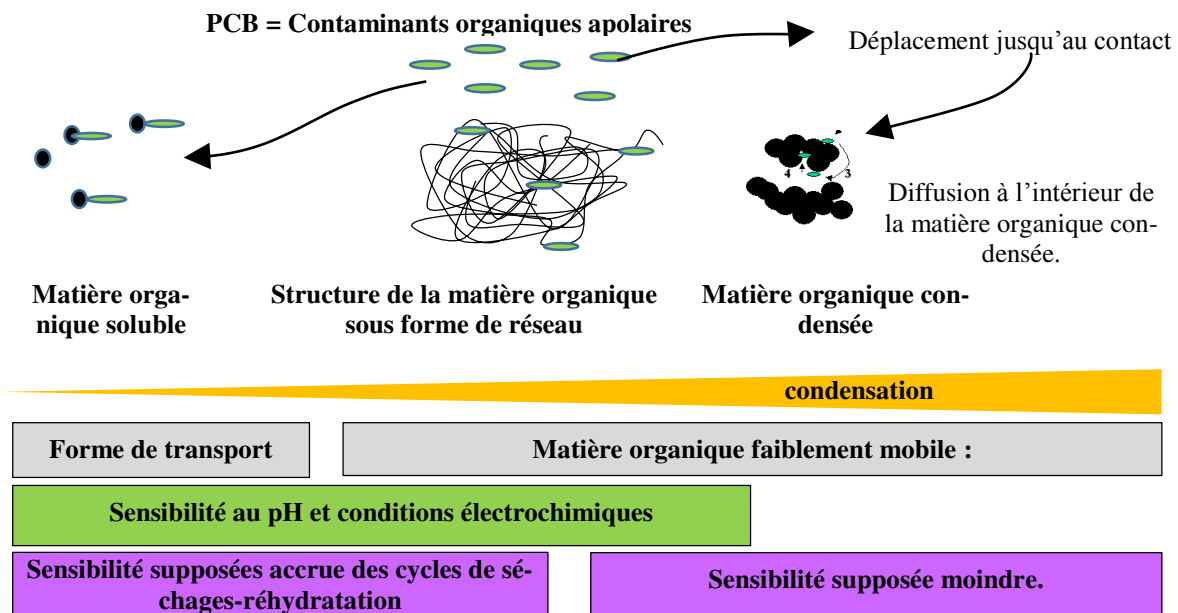


Figure 36 : Représentation schématique des propriétés et sensibilités aux conditions du milieu environnant associées aux différentes matières organiques suivant leur degré de condensation

Concernant les PCB cette variation a été retrouvée dans un test *in vivo* sur vers de terre (Paul et Ghosh, 2011). Le vieillissement couplé avec la présence de charbon actif a permis de réduire la biodisponibilité de 99% montrant (1) l'impact du processus de vieillissement (2) l'importance, lors de ce processus de la composition de la matrice de contact. Cette variation a de même été confirmée sur des rats par utilisation de sols naturels et artificiels contaminés à l'hexachlorobenzène (Saghir *et al.*, 2007).

Ainsi, il se dégage, que la matière organique serait responsable d'une sorption et d'une séquestration des polluants organiques. Cette phase pourrait avoir une incidence significative et quantitativement importante sur la biodisponibilité de ces contaminants. La composition de la matière organique serait une piste importante dans l'étude des variations de biodisponibilité des PCB induite par le sol. Il ressort que des composés hautement carbonés pourraient sorber et séquestrer fortement les PCB.

Le vieillissement d'un sol contaminé permet de diminuer la biodisponibilité. L'importance de cette variation serait déterminée par la composition du sol, notamment en matière organique et en composés hautement carbonés. Il ressort, toutefois, que le vieillissement d'un sol contaminé aux PCB demeure peu étudié *in vivo*.

L'argile par ces propriétés électrochimiques permettrait de retenir des composés polaires et chargés. Toutefois peu d'incidences de cette phase ont pu être mise en évidence sans qu'elle ne soit couplée avec de la matière organique. L'argile et ses conditions électrochimiques auraient un impact majeur sur la conformation du complexe argilo-humique et ainsi sur la surface d'action, c'est-à-dire les interfaces entre les composés organiques et les surface de sorption (Figure 37).

Le pH et l'eau pourraient avoir une incidence sur la matière organique peu condensée, sa conformation et ses propriétés de sorption. Cependant le peu d'études spécifiques, l'absence de données *in vivo*, sur ces paramètres rendent difficile une analyse de leur influence. On retiendra toutefois que l'eau demeure la phase de transport des composés organiques et que des études de disponibilité et de bioaccessibilité lui confèrent un rôle majeur de facilitation du trappage des contaminants. Cette facilitation du transport aurait pour origine la matière organique dissoute et en suspension conférant à ce mélange des propriétés colloïdales.

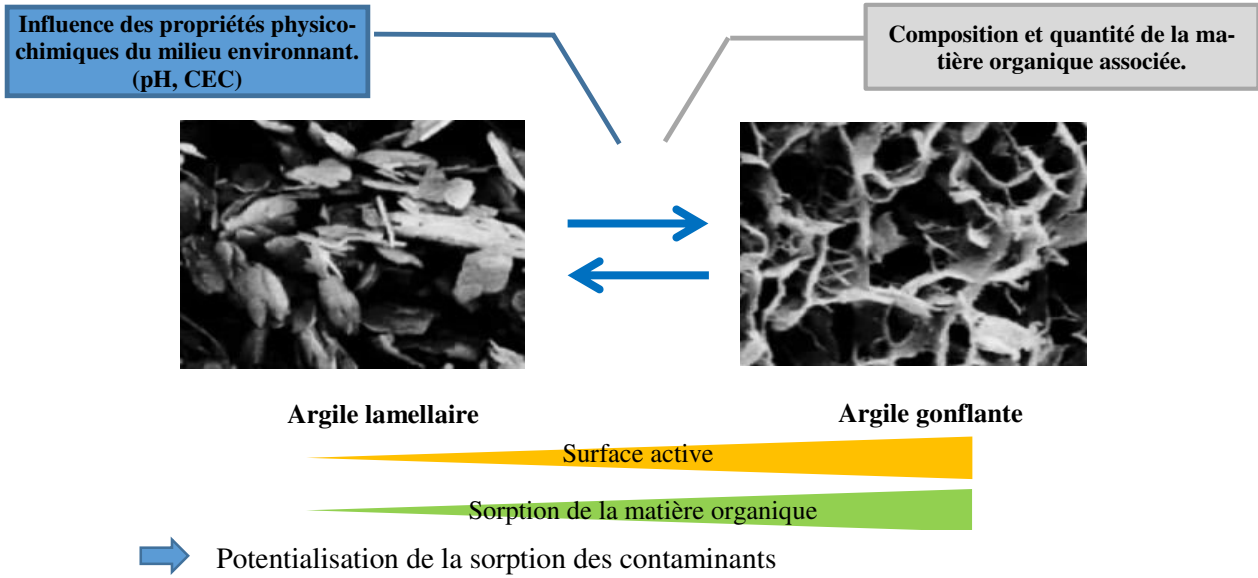


Figure 37 : Influence des argiles sur la sorption des contaminants organiques et variation des propriétés par le milieu environnant

Modèle par équilibre entre deux formes (isotherme d'Henry):

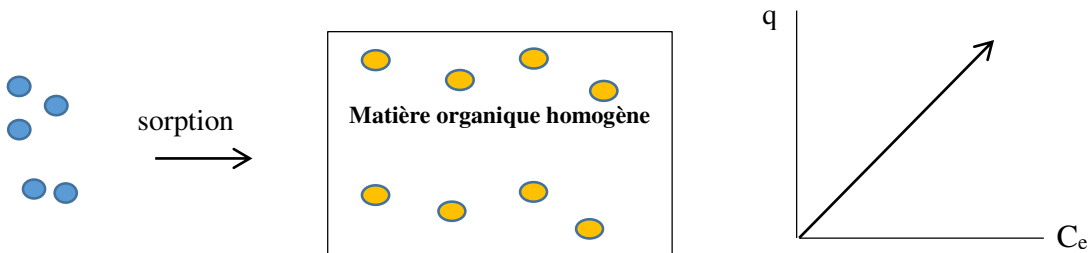
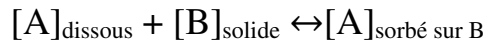


Figure 38 : Description et schémas explicatifs du modèle linéaire par partition.

Modélisation de la sorption par l'isotherme de Henry, nécessité d'une matière organique homogène et réponse linéaire de la quantité sorbée et quantité dissoute

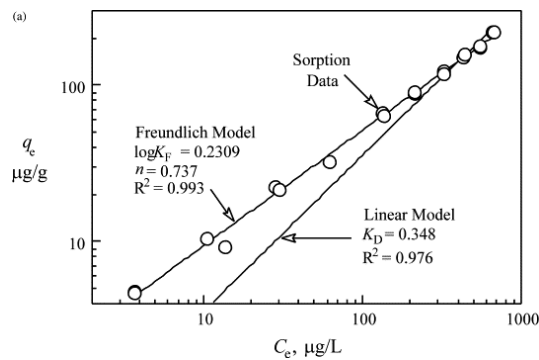


Figure 39 : Limite du modèle linéaire : non correspondance entre les données de sorption du phénanthrène et le modèle linéaire par partition.

Les données expérimentales sont représentées par les ronds creux. (Huang *et al.*, 2003).

3. Les modèles de sorption-désorption ou l'approche de la biodisponibilité par la « biomimétique »

Il peut paraître étonnant dans l'approche de la biodisponibilité de contaminants du sol chez l'Homme d'omettre l'organisme et tous les processus biologiques concourant à l'absorption de ces composés. Toutefois devant la complexité des interactions entre le sol et les composés organiques et dans l'appréhension de l'incidence des paramètres du sol, il semble nécessaire de développer les processus en amont de l'organisme afin de comprendre (1) les forces de rétention des composés organiques par le sol (2) les facteurs déterminant cette force pour (3) confronter les apports de ce domaine à la biodisponibilité évaluée *in vivo*. Le but de ce paragraphe est d'aborder les modèles de sorption-désorption qui sont des approches de disponibilité, approches également dites de « biomimétique ».

a. Les modèles basés sur la partition par diffusion simple

i. L'isotherme d'Henry (1968) (Nguyen, Goss, et Ball, 2005)

Le modèle par partition est utilisé fréquemment pour décrire un équilibre entre les formes sorbées des contaminants dans les phases solides du sol et les formes dissoutes dans la phase aqueuse du sol.

$$q = K_d \cdot C_e$$

- K_d : le coefficient de partition sur le sol.
 C_e : concentration en solution à l'équilibre.
 q : quantité de contaminant sorbée.

Ce modèle linéaire consiste en un état d'équilibre caractérisé par une constante nommée K_d (Nguyen, Goss, et Ball, 2005). Afin de pouvoir comparer la capacité de sorption d'un composé organique au sein d'un sol et de le normaliser à la concentration en matière organique la valeur du K_d est le plus souvent rapportée à la fraction de carbone organique donnant le partitionnement rapporté au carbone organique (Nguyen, Goss, et Ball, 2005).

$$K_{oc} = \frac{K_d}{f(oc)}$$

- K_{oc} : coefficient standardisé de diffusion dans le carbone organique et l'eau en dm³/Kg OC)
 K_d : le coefficient de partition (dm³/kg de sédiment)
 f(oc) : est la fraction en carbone organique contenue dans le sédiment ou le sol.

Dans de nombreuses publications une approximation de ce coefficient de partitionnement rapporté au carbone organique a été réalisée en utilisant le coefficient de partitionnement entre l'octanol et l'eau, le K_{ow} . Ainsi les composés organiques possédant une forte valeur de K_{ow} peuvent s'adsorber fortement au carbone organique qui exerce une force de rétention importante. L'utilisation de ce rapport suppose

toutefois que la matière organique joue un rôle prépondérant dans l'adsorption et, ainsi, que les interactions expliquant la sorption sont de type non polaire. Toutefois l'utilisation de ce coefficient repose sur une linéarité entre la concentration de contaminant et la concentration de contaminants sorbés, ce qui est peu retrouvé en conditions environnementales.

En effet, les expérimentations de sorption désorption des contaminants en phases aqueuses ont montré l'existence de phénomènes invalidant cette approche linéaire, la matière organique devrait, selon ce modèle, répondre de la même manière à la contamination, la considérant ainsi comme une phase homogène au pouvoir de sorption non limité (Mechlińska *et al.*, 2009). La linéarité a été remise en cause par les données expérimentales. L'approche privilégiée fut alors de reconnaître la capacité limitée de la matière organique à sorber les composés organiques et de la considérer comme un colloïde interagissant avec le composé.

ii. L'isotherme de Langmuir 1990 (Cornelissen *et al.*, 2005)

Un des modèles les plus simples décrivant la capacité limitée de sorption de la matière organique a été proposé par Langmuir. Il se base sur la présence d'un nombre limité de sites d'adsorption de la matrice organique. Un équilibre thermodynamique est envisagé. Il représente dans des conditions données une annulation des événements d'adsorption et de désorption. Cette constante peut être exprimée en fonction de la pression partielle du composé ou de sa concentration C_e dans la solution.

$$q = \frac{\theta \cdot b \cdot C_e}{1 + b \cdot C_e}$$

θ : capacité maximale de sorption

b : paramètre reflétant l'énergie du système et qui définit les relations existant entre les substances en solution aqueuses et les zones d'adsorption

C_e : Concentration à l'équilibre restant en solution

q : Quantité de contaminant sorbée

Cette constante de Langmuir a ainsi la limite de ne pas considérer la matière organique comme une substance hétérogène et les interactions spécifiques entre les molécules rendant les énergies d'adsorption entre les sites différents et non homogènes.

iii. Le modèle d'absorption de Freundlich

Il s'agit d'un modèle empirique qui est utilisé usuellement pour décrire quantitativement les équilibres de sorption de la matière organique d'un sol.

$$q_e = K_f \cdot C_e^n$$

q_e : fraction du contaminant dans la phase solide (ng/g)

C_e : fraction du contaminant dans la phase liquide

K_f : coefficient de diffusion correspondant à la fraction adsorbée

n : constante de Freundlich

Cette isotherme, dont les paramètres sont obtenus par expérimentation, décrit de manière satisfaisante le processus d'adsorption sur des surfaces hétérogènes et microporeuses. Toutefois ce modèle ne décrit qu'insuffisamment les données expérimentales.

Ainsi, les modèles basés sur la simple diffusion ont été remis en cause (Weber Jr. *et al.*, 2001) car ils ne rendaient pas ou difficilement compte des dualités qui pouvaient s'exprimer dans les interactions de la matière organique avec les composés organiques.

- Les variations de cinétiques de sorption
- La présence d'une hystérésis entre la sorption et la désorption.
- La compétition entre les composés organiques

C'est pourquoi d'autres modèles récents ont été développés pour prendre en compte cette particularité due à l'hétérogénéité de la matière organique. Ces modèles sont basés sur les théories de Langmuir et Freundlich.

iv. Les modèles mixtes

Ces modèles se basent sur une conceptualisation de la matière organique comme d'une surface profondément hétérogène. Ainsi une partie de cette matière organique posséderait une potentialité de sorption réversible ou une désorption rapide des composés organiques, tandis qu'une seconde posséderait une potentialité de sorption irréversible ou de désorption très lente des composés organiques adsorbés.

– Le “*Distributed Reactivity Model*” (DRM)

Le premier modèle, le modèle de distribution de réactivité ou « *distributed reactivity model* », DRM, fut décrit en 1992 (Huang, Yu, et Weber Jr., 1998 ; Pignatello, 1998). Il répond au besoin d'expliquer la non linéarité des isothermes de sorption et le caractère réversible ou irréversible, rapide ou lent d'un ou d'un mélange de composés organiques par une matrice organique. La base de ce modèle est donc la caractéristique hétérogène de la matière organique mais aussi l'appréhension des sols et des sédiments comme des mélanges hétérogènes comprenant une part organique et une autre inorganique. Chaque composé introduit sa propre constante d'équilibre de sorption qui trouve son explication par une énergie de sorption qui lui est propre et qui peut se présenter comme un processus de sorption linéaire ou non.

Une modélisation simplifiée de la matière organique la considère composée de deux phases (Mechlińska *et al.*, 2009 ; Pignatello, 1998) (Figure 40):

- Une phase amorphe, développée, dont les carbones sont mobiles et qui contient notamment les substances chimiques
- Une phase condensée et rigide contenant du kérogène et des substances carbonées.

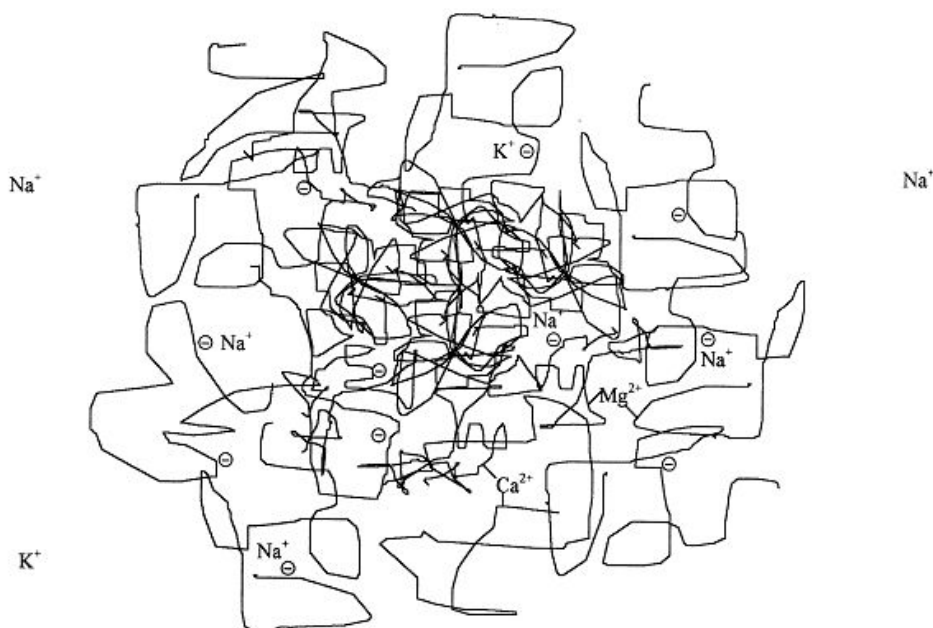


Figure 40 : Description de la matière organique comme un colloïde en solution aqueuse

Elle est constituée en deux phases : (1) une phase amorphe dont les carbones sont mobiles et situés à l'extérieur de la particule de matière organique et (2) une phase condensée, plus rigide pouvant contenir de la matière organique carbonée.

Source : (Pignatello, 1998)

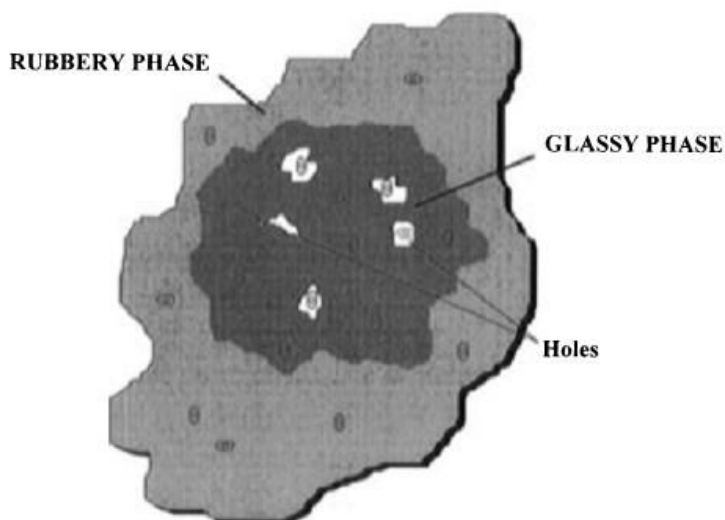


Figure 41 : Conceptualisation du "Dual Mode sorption Model" telle que présentée dans la publication de Xing et Pignatello (1997)

La phase solide est décrite comme un amalgame entre deux phases : une phase rugueuse et une face vitreuse. Les deux phases possèdent des domaines de dissolution mais la phase vitreuse possède également des espaces spécifiques d'entrapement.

Source : (Xing et Pignatello, 1997)

Ces deux phases distinctes forment une matrice responsable du transport et des liaisons faibles avec les composés organiques. Dans la partie amorphe, la distribution des polluants entre les deux phases (liquide-solide) est basée surtout sur des processus de diffusion et sont donc linéaires. Concernant la phase condensée, le processus de sorption est décrit comme une isotherme non linéaire, les fixations y sont supposées irréversibles ou peu réversibles.

– **Le modèle « *Dual-Mode sorption Model* » (DMM)**

Une deuxième conceptualisation de la matière organique a été formulée dès 1997. Ce modèle « dual-mode » ou DMM se base sur une modélisation des composés organiques en deux phases qui interagissent : les composés peuvent être sorbés dans une phase mais peuvent aussi migrer d'une phase à l'autre. La matière organique se présenterait sous la forme de polymères flexibles agissant comme un milieu de dissolution pour les molécules hydrophobes qui sont à l'interface des phases aqueuses et solides qui les entourent. Deux types de domaines dans ce modèle sont décrits (Pignatello, 1998) (Figure 41).

- Des domaines de dissolution où les sites de sorption sont éphémères. Les forces de rétentions y sont insuffisantes pour surpasser la mobilité du squelette carboné des composés humiques. Ces domaines réagiraient suivant des principes thermodynamiques définis par le coefficient de partition Kow.
- Des domaines d'accrochage plus spécifiques ou sites de piégeage, qui sont ponctuels dans la chaîne des composés humiques. Ces sites se retrouvent au sein de portions de la chaîne carbonée relativement stable. Ils dépendent à la fois des interactions faibles et de leur configuration stérique.

La sorption serait facilitée par la surface augmentée offerte par le sol par cette porosité. Elle permettrait aussi de déterminer la force d'adsorption et, donc de rétention, des polluants en jouant sur des caractéristiques physiques de la matière organique, telles que les forces de capillarité, de polarité, électrostatique... La structure des pores de la matière organique influence les cinétiques de sorption et de désorption et ainsi la disponibilité des composés chimiques aux attaques et aux processus d'assimilation biologique (Pignatello et Xing, 1996).

Il est ainsi avancé que les processus de sorption, et ce même à l'échelle intra-particulaire, n'atteint l'équilibre que très lentement requérant parfois plusieurs mois. Cette conception d'interaction avec la chaîne organique expliquent les données obtenues par spectrométrie de masse.

Plusieurs données expérimentales iraient dans ce sens, comme l'étude de la nanoporosité. Différentes expériences ont été menées en utilisant des méthodes différentes (Pignatello, 1998) :

- Adsorption au N₂ à 77K
- Adsorption au CO₂ à 273K

Des résultats divergents ont été retrouvés suivant les méthodes utilisées. L'adsorption au N₂ se réalisant à faible température pourrait diminuer tous mouvements de la chaîne humique et diminuerait la cinétique d'adsorption de N₂. La méthode au CO₂ serait ainsi plus sensible.

Une modélisation mathématique peut être réalisée en posant que la sorption totale revient à sommer la sorption réalisée par le domaine de dissolution $S(D)$ et la sorption réalisée sur des sites d'absorption spécifiques $S(H)$.

Une modélisation mathématique serait, ainsi, de considérer (Pignatello et Xing, 1996) :

$$q = S(D) + S(H) = \sum \frac{Q_{max} \cdot b \cdot C_e}{1 + bC_e} + K_p C_e$$

v. Adéquation de modèle de sorption et des données de modélisation

– Impact du mécanisme de piégeage sur la cinétique

Un des premiers impacts de ce mécanisme de piégeage serait la diminution de la mobilisation des polluants organiques, pouvant expliquer les variations de disponibilité des polluants. Ainsi la diffusion d'une molécule piégée serait 1000 fois inférieure à celles présentées dans les sites de dissolution. Une étude sur la désorption des PCB provenant de la rivière de l'Hudson montrerait (Carroll *et al.*, 1994) :

- Que les particules inorganiques jouent un rôle négligeable dans la désorption des PCB.
- Qu'un traitement à la chaleur des sédiments augmente la désorption (nature du traitement ou du temps) et qu'elle diminuerait significativement les PCB résistants à la désorption.
- Que suivant l'état de condensation de la matière organique les coefficients de diffusion sont de $2,6 \times 10^{-24}$ et $7,3 \times 10^{-27} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (respectivement pour l'état condensé et pour l'état gonflé).

Ces observations tendraient à confirmer la conceptualisation de la sorption par le modèle DMM. Il en serait de même pour les données concernant le charbon actif qui montre une modification importante de la biodisponibilité (Chai *et al.*, 2011 ; Paul et Ghosh, 2011 ; Saghir *et al.*, 2007). Le charbon actif possède une grande surface d'adsorption qui tendrait à confirmer l'impact des sites de piégeage nanoporeux dans les variations de la biodisponibilité (Chiou *et al.*, 2000 ; Karapanagioti, Childs, et Sabatini, 2001 ; Pignatello et Xing, 1996).

Ainsi, d'après les modèles DRM et DMM, une des étapes limitantes de la biodisponibilité serait la désorption de ces composés organiques persistants au sein de la matrice sol et surtout la cinétique de cette désorption. Ainsi différentes études ont montré que la sorption des HAP, PCB, PCDD/F et HCB par la matière organique du sol était déterminante dans la biodisponibilité de ces polluants (Kukkonen *et al.*, 2004 ; Lamoureux et Brownawell, 1999 ; White *et al.*, 1999), sur des bactéries, des organismes aquatiques et des bactéries. De surcroît la résistance à la désorption pourrait être attribuée à la haute affinité du noir de carbone ou d'autres éléments carbonés, qui sont ubiquitaires au sein de la matière organique dans le sol (Gustafsson *et al.*, 1997 ; Jonker et Smedes, 2000 ; Persson *et al.*, 2005). Des micropores hydrophobes dans la matière organique du sol permettent la sorption de nombreux composés organiques. La large surface et la haute aromaticité du noir de carbone rendrait possible la formation d'un nombre important d'interactions avec les composés

organique et permettrait une sorption forte (Jonker et Smedes, 2000 ; Koelmans *et al.*, 2006 ; Lyytikäinen *et al.*, 2003 ; Rockne *et al.*, 2002). De même des composés organiques moins âgés comme les acides humiques, montrent une sorption relativement faible (Song, Peng, et Huang, 2002 ; Weber Jr. *et al.*, 2001).

Un des arguments avancés par les scientifiques pour expliquer l'impact de la sorption sur la biodisponibilité serait la cinétique de désorption des contaminants de la matrice sol. La fraction biodisponible serait ainsi reliée à la fraction désorbée rapidement, les éléments désorbés lentement ne pourraient, ainsi, être accessibles.

– Vieillessement et hystérésis

Les différences de cinétique de sorption ont été reprises dans de nombreuses publications, ainsi plusieurs vitesses et caractéristiques sur la désorption ont été identifiées (*cf.* Tableau 9).

Cette cinétique de sorption très lente associée à une désorption très lente pourrait être à l'origine de la diminution de la biodisponibilité observée en expérimentation *in vitro* et *in vivo* (Chai *et al.*, 2011 ; Paul et Ghosh, 2011 ; Saghir *et al.*, 2007).

De plus de nombreux composés hydrophobes comme les PCB, les HAP et les pesticides montrent une résistance à la désorption (Pavlostathis et Jaglal, 1991 ; Pignatello, 1990a ; Pignatello, 1990b ; Siracusa et Somasundaran, 1987 ; Zawadzki, Harel, et Adamson, 1987). Il a été montré que la désorption de cette fraction résistante est souvent particulièrement lente, la demi-vie serait de l'ordre de quelques mois à quelques années (Kan, 1994 ; Karickhoff et Morris, 1985 ; Pignatello, 1990a ; Pignatello, 1990b ; Zawadzki, Harel, et Adamson, 1987). Un consensus a été atteint concernant l'affinité à la sorption des composés organiques qui serait plus importante que celle de la désorption résultant en un décalage dénommé hystérésis (Huang, Yu, et Weber Jr., 1998 ; Lu et Pignatello, 2002).

Cette différence de sorption-désorption a été avancée comme une des hypothèses explicatives de la variation de biodisponibilité. Cette hystérèse a de même été une des découvertes ayant permis de comprendre les interactions entre le sol et plus particulièrement la matière organique et les composés organiques.

Sorptions rapide :	Sorptions lente et très lente :
<ul style="list-style-type: none"> - Possède les caractéristiques de l'équilibre de partition - Est déterminée par l'absorption - Est en relation avec la forme amorphe « <i>plastique</i> » de la matière organique et qui est caractérisée par une sorption/désorption rapide (0,1 à 1h) - Est réversible rapidement - Est linéaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Les constantes de cinétique de sorption et de désorption lente 10 fois plus faibles que la sorption rapide, mais pour la désorption très lente 1000 fois plus faible. - Compétition entre les composés adsorbés - Elle est déterminée par la fraction « <i>rigide</i> » de la matière organique - Est irréversible ou réversible très difficilement

Tableau 9: Informations élémentaires concernant la sorption rapide, lente et très lente des contaminants sur les particules solides du sol.

Source : (Mechlińska *et al.*, 2009)

Résumé de la Partie 4 :

La matière organique serait la phase majeure permettant (1) la sorption et (2) une séquestration des composés organiques notamment apolaire. La question sur l'incidence sur la biodisponibilité de ces contaminants est ainsi posée. La qualité de la matière organique serait une piste primordiale dans l'étude des variations de biodisponibilité des PCB induite par le sol. La condensation de la matière organique paraît être un bon marqueur de cette variation de qualité et de la propension à séquestrer la matière organique. D'autres paramètres apparaissent d'importance: le vieillissement, la quantité d'argile et sa nature (même si elle paraît plus faible pour les contaminants apolaires) pouvant déterminer une séquestration physique, le pH et la quantité d'eau.

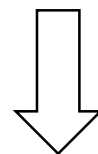
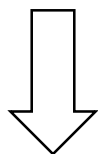
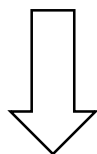
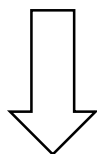
Afin de mieux prédire cette relation entre le contaminant et la matière organique, plusieurs modèles mathématiques ont été successivement développés. Si la correspondance avec les données expérimentales est imparfaite, elle permet toutefois de cerner le comportement de la matière organique dans les étapes d'intérêt : la sorption et la désorption.

Pour élucider et mieux comprendre ce phénomène de sorption puis de séquestration des contaminants organiques par la matière organique d'un sol, plusieurs modèles conceptuels de la matière organique ont été développés. Ainsi il est repris souvent dans la littérature que la matière organique peut se décomposer en plusieurs phases, qui peuvent se résumer en deux grandes portions : une phase sorbant rapidement les contaminants et une phase les sorbant très lentement. Ces différentes phases conditionneraient le devenir des contaminants notamment leur désorption (*cf.* Tableau 9).

2

Orientation des Travaux de Thèse

**Approche bibliographique :
Évaluation des risques sanitaires liés à l'ingestion de sols contaminés par les
PCB-NDL : impact des caractéristiques du sol**



L'évaluation du risque de l'ingestion involontaire de sols par l'enfant

- L'enfant peut ingérer du sol en nature
- Si le danger associé aux PCB est connu, le risque ne prend pas en compte leur biodisponibilité
- L'évaluation de l'exposition par la matrice ingérée ne prend pas en compte l'absorption

La biodisponibilité des contaminants organiques dans le sol

- La biodisponibilité apparaît être déterminante pour caractériser l'exposition de l'enfant.
- Elle nécessite un modèle animal adéquat et une méthodologie adaptée.

Devenir des contaminants organiques dans l'organisme

- L'organisme absorbe, distribue, métabolise et excrète partiellement les PCB
- Au final les PCB sont distribués au sein des organes qui les concentrent.
- Les tissus cibles d'importance sont le foie et le tissu adipeux.

La rétention des contaminants organiques par le sol

- Le sol par ses caractéristiques semble retenir les PCB.
- La sorption et la désorption sont deux étapes primordiales dans la disponibilité des PCB
- La matière organique et sa qualité semblent avoir une incidence majeure.



L'enfant ingère involontairement des quantités de sol significatives (100 mg) (US EPA 2011).

La biodisponibilité relative ainsi que la bioaccessibilité semblent des outils intéressants pour évaluer l'absorption

Les tissus cibles peuvent être utilisés pour étudier la biodisponibilité

La matière organique du sol et ses caractéristiques pourraient grandement influencer sur la biodisponibilité des PCB

La biodisponibilité est un outil d'évaluation de l'exposition externe. Utilisation de la méthode de biodisponibilité relative pour limiter les défauts de quantification dus à une matrice trop faiblement concentrée.

Caractérisation de la matière organique nécessaire.

1. Conclusion de l'approche bibliographique

L'ingestion involontaire de sol par l'enfant est une voie d'exposition qu'il est nécessaire d'appréhender lors de l'évaluation des risques sur un site reconnu comme contaminé. Du fait de leur toxicité particulière, les PCB-NDL apparaissent comme un danger important pour les enfants du fait de leur phase de développement et ce même si l'ingestion de sol apparaît limitée (100 mg par jour (U.S. EPA, 2011)). Si des dispositions pour évaluer les risques associés à un site contaminé par des polluants ont été établies, la gestion de ces sites et la décontamination est coûteuse dans un contexte où l'incertitude d'exposition est importante. En effet, la prise en compte des risques associés à des sols contaminés repose actuellement sur la concentration en PCB-NDL totale dans le sol, l'absorption de ces contaminants étant supposée totale sans autre donnée de terrain. Cette considération résulte du faible recul de l'effet du sol sur la biodisponibilité des contaminants organiques, l'importance des coûts engendrés par une expérimentation animale, l'absence de méthodologie *in vitro* validée et fiable. Toutefois il apparaît que le sol peut retenir différemment les PCB suivant ses caractéristiques. L'une des phases porteuses pouvant expliquer le plus cette rétention apparaît être la matière organique dont les caractéristiques, telle que la rétention, peuvent influencer sur cette condensation.

L'expérimentation *in vivo* apparaît la méthodologie la plus fiable pour procéder à l'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans le sol. Le choix d'un modèle adapté est nécessaire, et le porc (porcelet) apparaît être un animal modèle de choix en étant un compromis entre la faisabilité (notamment éthique) et l'adéquation des caractéristiques physiologiques avec celles de l'enfant. Parmi les méthodologies pouvant être employées, la biodisponibilité relative apparaît, de même, comme particulièrement intéressante du fait des faibles niveaux de contamination attendus. Cette méthodologie repose sur des rapports de concentrations obtenues suite à deux expositions, l'une par la matrice à tester, l'autre suivant une matrice de référence. Cette méthodologie se base sur les concentrations retrouvées dans des organes. Les résultats obtenus pourront être comparés directement à l'exposition alimentaire aux PCB-NDL, voie d'exposition particulièrement détaillée.

Si les estimations de biodisponibilité orale des PCB-NDL dans le sol sont relativement élevées chez le rat (80%), le peu d'expérimentations, le peu de données disponibles, ne permet pas de statuer sur l'absence d'impact du sol sur la biodisponibilité. Ces expérimentations mettent en lumière toutefois qu'il est nécessaire de décrire le sol et notamment la matière organique afin de mieux déterminer son impact lors des processus digestifs.

2. Organisation générale des travaux expérimentaux de thèse

Comme noté précédemment, la biodisponibilité relative nécessite la validation de plusieurs hypothèses en amont du calcul de la biodisponibilité. Ces étapes consistent, notamment, en la validation de la linéarité dose-réponse (dose d'exposition vs concentrations retrouvées dans les organes d'intérêt). De même, il s'agit de vérifier que le sol, de par la matière organique qu'il comprend, peut impacter la biodisponibilité des PCB. Ainsi deux volets expérimentaux successifs seront réalisés. Le premier, basé sur la détermination de la courbe dose-réponse suivant une exposition à des doses croissantes d'Aroclor 1254 dans une huile alimentaire. Le deuxième, basé sur la détermination de la biodisponibilité relative suite à l'exposition de sols artificiels contenant l'une des deux matières organiques contrastées choisies : le charbon actif et l'acide fulvique. Les deux ont été incorporées dans des proportions adéquates pour obtenir 1% de C_{org} .

Suite à cette première étude, et au vu des résultats contrastés de la première, une investigation plus poussée de l'impact de la matière organique sera réalisée au sein d'une deuxième étude. Cette dernière reprendra le même seuil de 1% de C_{org} incorporé dans le sol artificiel et se basera sur un nombre plus important de matières organiques différentes : deux matières organiques solubles (acides fulviques et acides humiques), deux charbons actifs différents, et deux matières organiques hétérogènes : la tourbe de Sphaigne et la tourbe de Sphaigne amendée au charbon actif (95 :5, ms:ms).

Enfin les apports de ces deux premières études seront investis dans une troisième étude basée sur l'étude de la biodisponibilité relative des PCB-NDL dans des sols historiquement contaminés. Après une sélection de 10 sols (détaillée dans le prochain chapitre) couvrant une gamme représentative de caractéristiques rencontrées dans les sols (teneur en argile, pH, teneur en carbone organique, teneur en *black carbon* et concentration en PCB-NDL), la biodisponibilité relative des PCB-NDL sera évaluée. Cette sélection permettra de pondérer les caractéristiques des sols pouvant impacter la biodisponibilité relative des PCB-NDL.

Enfin une discussion générale intégrant les résultats obtenus sera développée. Elle permettra de cerner les apports des travaux de thèse sur la compréhension des mécanismes associés à la biodisponibilité relative des PCB et conclura sur son apport en évaluation des risques.

3

Sites d'études, Prélèvements et Caractérisation des sols

1. Choix des sites d'études, des sols et mode opératoire des prélèvements

a. Identification des sites présentant des sols contaminés

Pour déterminer l'impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité des PCB, il était nécessaire de collecter des sols contrastés. De même, un nombre de sols relativement limité (une dizaine) peut prendre part aux expérimentations animales. Ainsi, la première étape consistait à identifier des sites d'intérêt de collecte permettant d'obtenir des sols diversifiés mais présentant un historique de contamination comparable. Pour cela la base de données de référencement de sites contaminés (BASOL) a été utilisée et croisée avec les informations obtenues auprès de l'ADEME. Ainsi, deux types de sol, fortement et faiblement anthropisés, ont été retenus.

La sélection de sites a été réalisée en privilégiant des niveaux de concentrations en PCB-NDL compatibles avec les expérimentations *in vivo*. En effet, un niveau d'ingestion de sol proche des recommandations de l'USEPA (100 mg de sol par jour) a été choisi. Une limite maximale de 3 g de sol sec pour 10 Kg de poids vif a été retenue. Afin de permettre une quantification des PCB-NDL dans les organes cibles, un minimum de 3 mg de PCB-NDL par Kg de sol sec s'est imposé.

Quatre sites se sont révélés intéressants pour notre étude parmi le panel de sites conseillé par l'ADEME. Un de ces sites présentait un profil uniquement industriel (Korsec, anthropisé) tandis que les trois autres présentaient un profil mixte combinant des zones fortement anthropisées à des zones plus préservées (Réverdy, Saint-Cyprien, Ploufragan, *cf.* Tableau 10 et Figure 42). En plus de ces quatre sites, un site ayant déjà fait l'objet d'investigation au laboratoire a été rajouté à ce panel (Dieulouard, *cf.* Tableau 10 et Figure 42). Un sol anthropisé supplémentaire a pu être obtenu auprès d'une usine de retraitement de déchets Tredi (Lyon). Pour compléter l'étude, un sol standard de référence contaminé aux PCB (BCR 481) a été acquis auprès du Bureau de la Communauté Européenne (Institut des matériaux de référence et mesures).

Un déversement d'huile contaminée sur le sol est rapporté pour l'ensemble de ces sites. L'historique de contamination n'est toutefois pas connu pour le sol de Lyon. De même les épisodes de contamination sont *a priori* relativement anciens (*cf.* Tableau 10).

Nom du site	Ville à proximité	Historique de contamination	Profil de sols rapportés	Age rapporté de la contamination
S' Cyprien	Saint-Cyprien, Loire (42 160)	Fuite de containers d'huiles contaminées. Feu récent.	Mixte industrie avec sol anthropisé, zone forestière.	2008 date du feu
Korsec	Basse-Ham, Moselle, (57 970)	Fuite de transformateurs.	Sol anthropisé. Ancienne décharge et atelier mécanique.	avant 2 000
Ploufragan	Ploufragan, Côtes-d'Armor (22 440)	Usine de retraitement d'huile contaminée	Mixte. Zone fortement contaminée à proximité d'une buse.	avant 1 993
Reverdy	Cognière, Haute-Saône (70 230)	Fuite d'un transformateur. Ancienne usine agro-alimentaire.	Mixte industrie avec sol anthropisé, zone forestière.	avant 1 998
Dieulouard	Dieulouard Meurthe-et-Moselle (54 380)	Ancienne usine.	Zone fortement contaminée en contrebas d'un bras mort.	avant 1997
BCR	Non connu	Ancienne industrie allemande	Industriel.	Non connu
TREDI (Lyon)	Non connu	Non connu	Anthropisé	Non connu

Tableau 10: Site de prélèvement des sols, historique de contamination connu et profil de sol.



Tredi	Sol fourni par la société Tredi (Lyon, 69 000)
BCR 481	Sol de référence acheté auprès de Sigma

Figure 42: Localisation des sites de prélèvement et approvisionnement en sol.

Source et copyright : Google®

b. Acquisition des sols

Le sol de référence de la commission européenne le BCR 481, a été acquis auprès de Sigma (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA). Les teneurs en PCB de ce sol sont certifiées par the *Institute for Reference Materials and Measurements* (IRMM).

Pour chaque site plusieurs prélèvements ont été effectués quand cela était possible.

Les prélèvements des autres sols ont été réalisés sur les sites contaminés après autorisation de l'ADEME et reconnaissance du terrain. Lorsque les informations étaient disponibles, les teneurs en PCB du sol suivant la localisation au sein du site.

i. Saint-Cyprien (Loire, 42 160)

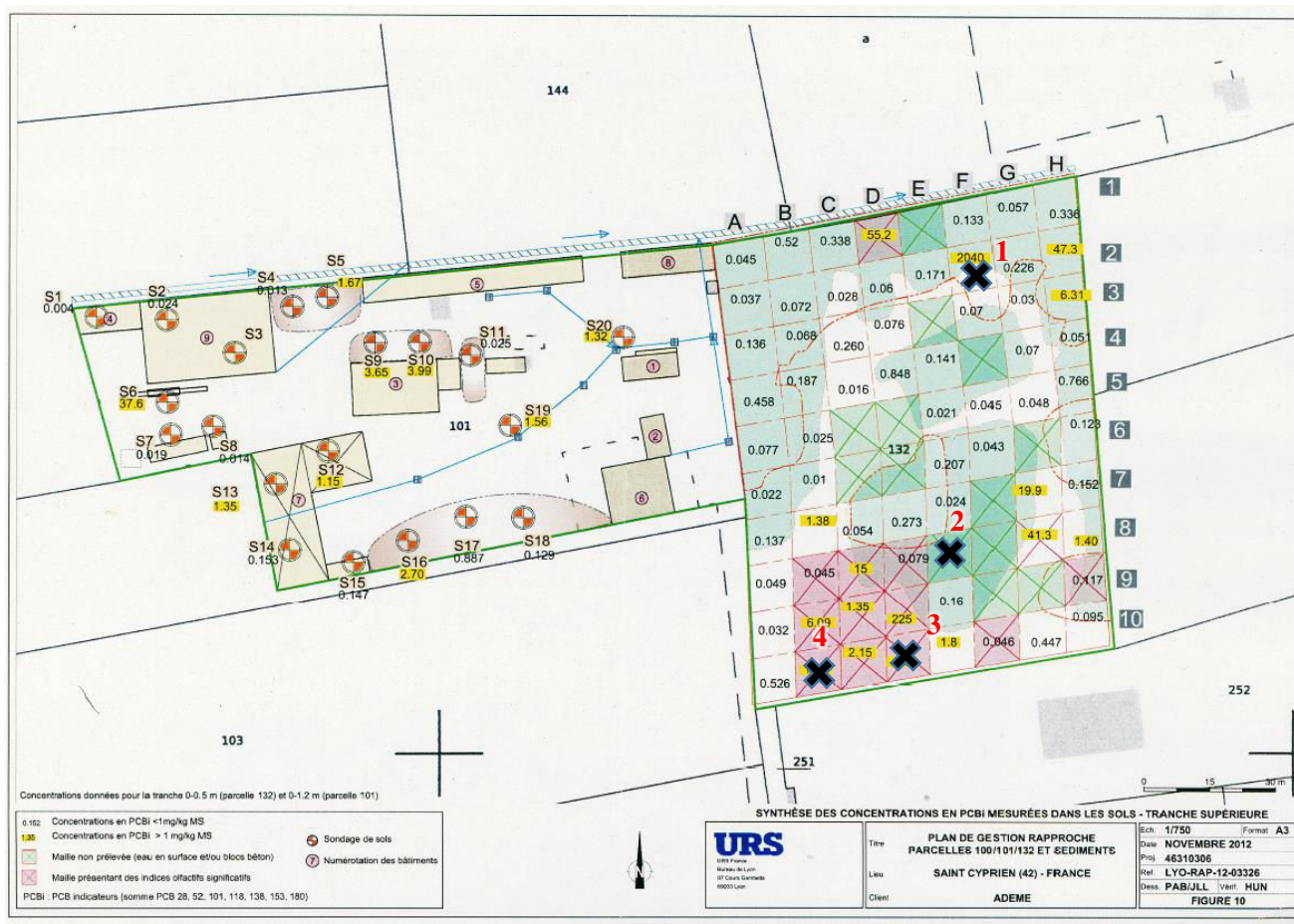
Pour le site de Saint-Cyprien, un premier repérage a été réalisé suivant les documents, indiquant la distribution de la concentration en PCB suivant la localisation au sein des parcelles. Ainsi, deux grands groupes de sol ont été discriminés avec d'un côté des sols prélevés sur des prairies et de l'autre des sols prélevés sur la parcelle où le feu s'est déclaré. Ainsi les prairies ont été contaminées par dépôts aériens, tandis que le sol de la parcelle en feu l'aurait été par déversement. Les deux prélèvements en zone prairiale ne semblaient pas diverger visuellement l'une de l'autre. A l'inverse, les quatre zones prélevées sur le site du feu ont été choisies par distinction visuelle. Ainsi une surface brûlée a été prélevée, deux sols présentant des débris végétaux dont un à proximité d'une légère dépression irrégulièrement en eau et enfin, une zone présentant un sol d'apparence plus sableuse (*cf.* Figure 43).

ii. Reverdy (Haute-Saône, 70 230)

Le site de Reverdy peut-être divisé en deux zones distinctes : la zone industrielle (à l'origine de la contamination par fuite du transformateur appartenant à l'usine) et la zone forestière en contrebas. L'originalité du site réside dans la présence de deux sites éloignés géographiquement. Une rivière sous-terrainne a charrié une partie de la contamination jusqu'à son affleurement au niveau d'une vallée. Ainsi les points de prélèvement ont été choisis le long de l'affleurement de l'eau de la rivière sous-terrainne et des niveaux de contamination rapportés. Cinq points ont été prélevés. Un sol a ainsi été prélevé sur le site même de l'usine. Deux sols ont été prélevés dans la forêt avec une zone à 50 cm d'une zone d'eau stagnante. Enfin deux sols ont été prélevés 1/à proximité d'un puit débordant lors de forte pluie et 2/sur les bords de la rivière.

iii. Korsec (Basse-Ham, Moselle, 57 970)

Le site de Korsec constitue un site en cours de réhabilitation et de nombreuses excavations ont été réalisées. Deux transformateurs sur le site ont présenté des fuites importantes. Le sol jouxtant ce site a été stocké dans l'entrepôt suivant leur localisation. Deux types de prélèvement ont été réalisés: un sur les portions excavées et l'autre directement sur le sol restant. Huit sols ont été échantillonnés.



Numéro	Caractéristiques visuelles
1	texture sableuse
2	Débris végétaux importants. Proche d'une zone d'eau.
3	Débris végétaux importants
4	Aspect brûlé.

Figure 43: Schéma de la parcelle de St Cyprien contaminée ayant pris feu et le quadrillage (parcelle 132)

Chaque zone prélevée est matérialisée par une croix (X). Des caractéristiques visuelles simples ont été consignées et ont basé le choix de la localisation en regard des données de contamination.

Source : URS, fourni par ADEME.

iv. Dieulouard (Meurthe-et-Moselle, 54 380)

Un sédiment dans une zone ayant déjà fait l'objet d'une étude d'impact environnementale de biodisponibilité a été prélevé au sein d'un bras mort. La zone industrielle en amont a déversé des huiles contaminées.

v. Ploufragan (Côtes-d'Armor, 22 440)

Un sol à proximité d'une buse de déversement a été prélevé. L'eau se déposant sur ce sol provient d'une ancienne usine de retraitement d'huile usagée située en amont. Le sol présente d'important débris végétaux. Ce sol a été prélevé et fourni par l'ADEME. Pour l'ensemble des sols, et quand cela a été possible, seul l'horizon constitué par les 5 premiers centimètres en surface a été prélevé. Cet horizon est considéré comme représentatif du sol potentiellement ingéré par un enfant. Chaque prélèvement identifié est un composite de 3 sous-échantillons prélevés dans un rayon de 1m. Lors du prélèvement les débris végétaux grossiers et les plus gros agrégats ont été retirés manuellement. Les échantillons ont ensuite été répartis et conditionnés dans des barquettes en aluminium.

c. Caractérisation des sols

Des caractéristiques simples de sol ont été choisies en premier lieu pour décrire les sols. Des méthodes de mesures standardisées, largement utilisées en sciences environnementales, ont été préférées. Elles ont été, en outre, fréquemment employées lors d'études de biodisponibilité et bioaccessibilité. Afin de mieux caractériser la part de matière organique hautement condensée, le taux de *black carbon* a été également déterminé. La méthodologie est toutefois moins standardisée et la méthode appliquée par un laboratoire d'analyse (INRA d'Arras) a été utilisée.

i. Préparation des échantillons

Avant tout traitement, les sols ont été conservés au congélateur (-20°C). Du fait de leur forte contamination supposée, les sols ont été déshydratés par lyophilisation (Christ martin). Des tamisages successifs suivis d'un broyage grossier jusqu'à 500µm ont été réalisés. Afin d'homogénéiser les échantillons, 5 passages dans un carter ont été réalisés. Enfin les sols ont été stockés dans des vials ambrés, stockés à température ambiante (20°C) jusqu'à leur utilisation.

ii. Détermination des concentrations en PCB-NDL dans les échantillons

Une première analyse des échantillons a été menée au laboratoire. L'extraction de 250 mg d'échantillon de sol a été réalisée en utilisant une ASE (toluène/acétone, 70:30 vol/vol, 120°C; ASE 350, Dionex, Sunnyvale, USA) puis une purification sur colonne de silice acide comme décrit ultérieurement (*cf.* chapitre 4). Après sélection des sols d'intérêt, les concentrations en PCB-NDL ont été déterminées une seconde fois par un laboratoire accrédité, CARSO (Lyon), pour ces sols sélectionnés.

	Concentrations en PCB-NDL ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de MS)	Granulométrie ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)					pH	Taux de carbone organique ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	Black carbon ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	Sélection et identification
		Sable grossier	Sable Fin (50-200 μm)	Limon grossier (20-50 μm)	Limon fin (2-20 μm)	Argiles (<2 μm)				
Site de St Cyprien (42 160)										
1	13,61 \pm 1,28 ^b	380 \pm 15	212 \pm 6	85 \pm 2	176 \pm 13	147 \pm 6	7,47 \pm 0,06	41,2 \pm 3	1,57 \pm 0,06	A1
2	148,32 \pm 2,75 ^b	236 \pm 12	210 \pm 7	119 \pm 5	272 \pm 1	143 \pm 2	7,48 \pm 0,02	123 \pm 2	3,94 \pm 0,92	
3	1113,7 ^a	400 \pm 22	261 \pm 20	95 \pm 3	150 \pm 0	94 \pm 1	6,52 \pm 0,00	45,3 \pm 0,4	3,22 \pm 0,28	Contamination trop élevée
4	350,7 ^a	393 \pm 36	226 \pm 10	87 \pm 9	198 \pm 8	100 \pm 4	6,81 \pm 0,01	66,8 \pm 1,7	4,90 \pm 0,82	Contamination trop élevée
A	3,39 ^a	368	238	93	153	148	5,53	26,3	45,5	Contamination trop basse
B	1,50 ^a	403 \pm 94	280 \pm 42	58 \pm 10	116 \pm 26	127 \pm 18	5,33 \pm 11	40,2 \pm 7	1,72 \pm 0,13	Contamination trop basse
Site de Korsec (57 970)										
1	1692 ^a	292 \pm 18	198 \pm 11	137 \pm 1	201 \pm 12	174 \pm 5	7,88 \pm 0,02	41,0 \pm 0,8	4,83 \pm 0,51	Contamination trop élevée
2	1337 ^a	290 \pm 2	186 \pm 10	127 \pm 11	209 \pm 8	189 \pm 10	7,92 \pm 0,02	39,3 \pm 1,34	6,10 \pm 1,15	Contamination trop élevée
3	1859,3 ^a	220	120	140	255	265	4,76	74,9	9,64	Contamination trop élevée
4	75,37 \pm 15,03 ^b	337 \pm 9	239 \pm 0	112 \pm 2	174 \pm 8	139 \pm 1	8,12 \pm 0,01	55,6 \pm 0,21	4,30 \pm 0,53	B2
5	63,32 \pm 6,67 ^b	309 \pm 27	245 \pm 11	124 \pm 2	176 \pm 4	147 \pm 9	8,18 \pm 0,02	46,7 \pm 2,1	2,78 \pm 0,15	B1
6	65,96 \pm 9,78 ^b	335 \pm 28	250 \pm 1	118 \pm 5	171 \pm 11	128 \pm 11	8,20 \pm 0,02	61,5 \pm 1,7	6,2 \pm 0,3	B3
7	27,18 ^a	306 \pm 2	265 \pm 5	141 \pm 4	172 \pm 4	118 \pm 3	8,16 \pm 0,00	60,9 \pm 1,7	5,9 \pm 5,3	Contamination trop basse
8	12,13 ^a	371 \pm 13	377 \pm 12	79 \pm 0	85 \pm 3	89 \pm 1	8,37 \pm 0,00	27,3 \pm 0,63	3,59 \pm 1,4	Contamination trop basse
Sol fourni par Tredi® (Lyon)										
1	30,47 \pm 3,58 ^b	235 \pm 7	239 \pm 6	155 \pm 5	207 \pm 2	165 \pm 1	8,2 \pm 0,00	14,7 \pm 0,85	1,65 \pm 0,41	C
Site de Ploufragan (22 440)										
1	32,69 \pm 3,10 ^b	78 \pm 34	129 \pm 18	379 \pm 1	279 \pm 10	135 \pm 4	7,47 \pm 0,04	181 \pm 4	2,20 \pm 0,75	D
Site de Reverdy (70 230)										
1	302 ^a	51 \pm 6	49 \pm 13	152 \pm 20	267 \pm 16	481 \pm 17	7,35 \pm 0,04	54,9 \pm 2,2	2,73 \pm 0,02	Contamination trop élevée
2	24,45 \pm 0,79 ^b	20 \pm 4	72 \pm 2	221 \pm 1	315 \pm 4	373 \pm 1	7,07 \pm 0,00	48,0 \pm 0,8	1,16 \pm 0,05	E2
3	36,5 ^a	32 \pm 5	131 \pm 2	223 \pm 1	250 \pm 5	366 \pm 7	7,48 \pm 0,00	28,4 \pm 1,13	1,30 \pm 0,40	Non retenu du fait de ses caractéristiques.
4	0,60 ^a	170 \pm 2	87 \pm 3	121 \pm 6	235 \pm 5	389 \pm 2	7,28 \pm 0,01	57,2 \pm 1,55	3,83 \pm 2,93	Contamination trop basse
5	83,69 \pm 7,58 ^b	131 \pm 12	94 \pm 4	156 \pm 9	351 \pm 16	269 \pm 16	7,90 \pm 0,00	12,1 \pm 0,49	0,86 \pm 0,11	E1
Site de Dieulouard										
1	0,7 ^a	592	204	111	93	-	-	34	0.3	Contamination trop basse
Sol de référence (BCR 481, Sigma)										
1	307,33 ^a	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	5,25 ^a	N.D.	N.D.	R

Tableau 11 : Caractéristiques des sols prélevés, sélection et identification

^a : analyse en PCB et pH réalisés au sein de notre laboratoire (n=1).

^b : données fournies par Carso (CARSO – LSEHL, Lyon, France) (n=3).

^c : données fournies par le laboratoire d'analyse de sols d'Arras (LAS, Arras, France) (sauf indication contraire, n=2).

^d : un vial envoyé s'étant cassé, l'analyse en duplica n'a pu être réalisée (n=1).

(CARSO – LSEHL, Lyon, France). L'envoi de 3 sous-échantillons par sol, en aveugle (numérotés aléatoirement), de 20 g de MS a été réalisé. L'analyse accréditée COFRAC a été adaptée de la norme NF EN 16167 (extraction par ASE suivie par une analyse par GC-MS).

iii. Détermination du pH, de la quantité de carbone organique, de la granulométrie et du *black carbon*

Le pH, la quantité de carbone organique, la granulométrie des sols échantillonnés ont été déterminés par le laboratoire d'analyse des sols (Laboratoire d'Analyses des Sols d'Arras, Arras, France). Les sols ont été analysés en dupliqua après envoi d'échantillons en aveugle. Ces propriétés physiques ont été déterminées suivant des méthodes standardisées COFRAC. Une granulométrie 5 fractions (NF X 31-107) a été réalisée, discriminant les fractions suivantes : 500-200 μ m (sables grossiers), 200-50 μ m (sables fins), 50-20 μ m (limons grossiers), 20-2 μ m (limons fins), <2 μ m (argiles). Le taux de carbone organique a été réalisé après décarbonatation (NF ISO 10 694). Le pH a été mesuré après traitement au KCl 0.1 NM (NF ISO 10 390). Le *black carbon* a été déterminé par oxydation chemo-thermique après décarbonatation (Caria *et al.*, 2011).

d. Sélection des sols pour les manipulations *in vivo* et *in vitro*

Suite à la caractérisation des sols, 9 sols prélevés ont été choisis. Les choix opérés furent dans le but d'obtenir (1) des caractéristiques variés, (2) un nombre de sites le plus important possible et (3) un niveau de contamination rendant possible les manipulations *in vivo*.

En général c'est ce troisième critère qui s'est avéré le plus sélectif. Du fait de la faible contamination du sédiment prélevé à Dieulouard et sur les zones prairiales de S^t Cyprien (S^t Cyprien A&B), ces échantillons n'ont pu être sélectionnés. L'ensemble des données de contamination et caractéristiques des sols prélevés est présenté dans le Tableau 11.

4

Biodisponibilité Relative : validation méthodologique

Introduction

Les approches de biodisponibilité sur modèle porcelet apparaissent comme un outil adéquat pour évaluer l'exposition de l'enfant suite à ingestion involontaire de sol contaminé aux PCB-NDL. Comme noté précédemment au préalable la définition de la relation dose-réponse. Cette réponse (concentrations en PCB-NDL dans les organes) est évaluée par analyse d'organes d'intérêt. La sélection de ces organes d'intérêt doit être ainsi réalisée.

Les PCB, de par leur lipophilicité, ont une tendance particulière à l'accumulation dans les tissus adipeux. Le tissu adipeux péri-caudal a été choisi du fait de la facilité de son prélèvement. Le foie, organe prépondérant de la métabolisation et porte d'entrée de la circulation systémique apparaît également d'intérêt. Le muscle est un tissu particulièrement perfusé et draine une fraction importante du sang en circulation. Le *longissimus dorsi* du fait de sa facilité de prélèvement, a également été choisi. Enfin l'encéphale dans son intégralité a été prélevé du fait des effets indésirables ayant trait à cet organe.

Au-delà de ce choix il est nécessaire de vérifier que les conditions de l'évaluation de la biodisponibilité relative sont correctement remplies. Ainsi, la linéarité de la dose-réponse est apparue comme un élément clé dans la validation de l'utilisation de cette méthodologie. Les critères successifs ayant permis cette validation sont détaillés dans le premier volet cet article.

Afin de déterminer si un effet sol existe et, le cas échéant, si son impact est important à considérer en termes d'évaluation des risques, il semble important de déterminer quelle gamme de biodisponibilité relative des PCB contaminant le sol peut être retrouvée. Ainsi cette première étude basée sur des sols artificiels évalue la biodisponibilité relative sur des sols artificiels comprenant des matières organiques contrastées.

Les pages suivantes correspondent à une publication intitulée «*Effects of condensed organic matter on PCBs bioavailability in juvenile swine, an animal model for young children*» (référence ci-dessous), parue dans la revue *Chemosphere* en 2014. L'article présente deux essais expérimentaux réalisés sur porcelets. Les tissus cibles étudiés sont le tissu adipeux péri-caudal, le foie, le muscle *longissimus dorsi* et l'encéphale. Les deux essais expérimentaux ont permis de répondre aux objectifs expérimentaux définis plus haut.

Delannoy, M., Rychen, G., Fournier, A., Jondreville, C. and Feidt, C. 2014. Effects of condensed organic matter on PCBs bioavailability in juvenile swine, an animal model for young children. *Chemosphere*. 104, (Jun. 2014), 105–112.

ARTICLE 1:**EFFECTS OF CONDENSED ORGANIC MATTER ON PCBs BIOAVAILABILITY IN JUVENILE SWINE, AN ANIMAL MODEL FOR YOUNG CHILDREN**

Matthieu Delannoy, Guido Rychen, Agnès Fournier, Catherine Jondreville, Cyril Feidt

Université de Lorraine, INRA USC 340, UR AFPA, 2 avenue de la Forêt de Haye TSA 40602, 54 518 Vandœuvre-lès-Nancy, France

1. Abstract

The exposure assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) contaminated soils is a critical issue in terms of human health, especially since little reliable information on transfer of PCBs to humans via involuntary soil ingestion is available. Indeed, young children with their hand-to-mouth activity may be exposed to contaminated soils. The current study addresses the impact of soil organic matter (OM) condensation on bioavailability of sequestered NDL-PCBs. Three artificial soils (AS) were prepared according to OECD guideline 207. One standard soil (SS), devoid of OM, and two amended versions of this SS with fulvic acid (FA) or activated carbon (AC) were prepared to obtain 1% organic mass. This study involved fourteen juvenile male swine as a digestive physiology model of young children. Animals were randomly distributed into 4 contaminated groups (3 replicates) and a control one (2 replicates). During 10 days, the piglets were fed AS or a corn oil spiked with 19 200 ng of Aroclor 1254 per g of dry matter (6 000 ng.g⁻¹ of NDL-PCBs) to achieve an exposure dose of 1 200 ng NDL-PCBs.kg⁻¹ of body weight per day. After 10 days of oral exposure, NDL-PCBs in adipose tissue, liver and muscles were analyzed by GC-MS, after extraction and purification. Two distinct groups of treatments were found: on the one hand oil, SS and FA, on the other hand C and AC. This study highlights that condensed OM (AC) strongly reduces bioavailability whereas the less condensed one (FA) does not seem to have a significant effect. This result has to be considered as a first major step for further relative bioavailability studies involving mixture of different humic substances.

Keywords: Soil; bioavailability; NDL-PCBs, children, piglets, organic matter.

Abbreviations: non-dioxin like PCBs (NDL-PCBs); relative bioavailability (RBA); organic matter (OM); standard soil (SS); fulvic acid amended artificial soil (FA); activated carbon amended artificial soil (AC); dry matter (DM); body weight (BW); spiked oil (SO); clean standard soil (C); gas chromatography coupled with a mass spectrometer (GC-MS); accelerated solvent extraction (ASE); limit of quantification (LOQ)

2. Introduction

The exposure assessment to pollutants from contaminated soils is a critical issue in terms of safety management. Little reliable information is available on the pollutant transfer to target population through involuntary soil ingestion. Children may exhibit hand-to-mouth activities and according to their development they are particularly susceptible to hazardous chemicals. Indeed, the infant has an immature blood-brain barrier (Grandjean et Landrigan, 2006) and at various developmental stages, his metabolism pathways may differ from those of adults (NRC, 2003 ; Vieira *et al.*, 1996). Concerning PCBs, cohorts studies (on 7 months of age, and at 4 years of age) reported a possible memory deficit following exposure (Faroon *et al.*, 2000 ; Grandjean et Landrigan, 2006 ; Jacobson et Jacobson, 1996 ; Jacobson *et al.*, 1992). Similar results were found following a perinatal exposure in rats (ATSDR, 2000 ; Corey *et al.*, 1996 ; Lilienthal et Winneke, 1991), even at environmentally low doses (Elnar *et al.*, 2012) and in monkeys (Levin *et al.*, 1988 ; Schantz *et al.*, 1989). These neurodevelopmental and behavioral impacts were linked to non-dioxin like congeners (Boix *et al.*, 2010 ; Boix *et al.*, 2011). Six of these non-dioxin like PCBs (NDL-PCBs) constitute the most abundant part of PCBs found in environmental matrices like soils, sediments or foodstuff (ANSES, 2007 ; EFSA, 2010 ; Meijer *et al.*, 2003) and are laid down in European regulation No 1259/2011 (European Commission, 2011). In this context and in order to perform a quantitative assessment of health risks, it appears of real importance to focus on exposure to NDL-PCBs *via* involuntary soil ingestion. The relative bioavailability (RBA) approach which relies on the ratio of the bioavailability of a compound in one exposure context to that in another exposure context appears to be a valuable way to perform this exposure assessment (NRC, 2003 ; U.S. EPA, 2007b ; U.S. EPA, 2007d).

However, when considering the RBA of lipophilic organic soil bound compounds, highly variable results were obtained between mammals highlighting the major importance of the animal model (Feidt *et al.*, 2013 ; Fournier *et al.*, 2012 ; Fries et Marrow, 1992 ; Jondreville *et al.*, 2013 ; Ounnas *et al.*, 2009 ; Saghir *et al.*, 2007). Considering the assessment of children's exposure after ingestion it appears that three animals are particularly used and pertinent to model children: rats, monkeys and swine. Concerning juvenile swine and rats contaminated soil uptakes have been also previously reported to be different (Budinsky *et al.*, 2008). Indeed, gastrointestinal absorption differs between rats and swine regarding specific mechanisms driving absorption, as noticed for metallic ions (Casteel *et al.*, 2006 ; Denys *et al.*, 2012 ; Oomen *et al.*, 2004 ; U.S. EPA, 2007d). The juvenile swine appears to be a better model than rodent one. Indeed, the relative similarity of physiology, growth and mechanisms of absorption between young humans and swine led to an increasing use of this animal as a model of oral bioavailability and its application in risk assessment studies (Budinsky *et al.*, 2008 ; Casteel *et al.*, 2006 ; U.S. EPA, 2007d). Such an approach consisting a combination of both RBA methodology and swine model has already been performed for trace metals (Denys *et al.*, 2012).

Overall assessment of the risk linked to contaminated sites is mostly carried out in response to toxicity to humans and in estimating this, the oral bioavailability of the contaminants is a key parameter. Soil particles

that are ingested by mammals are exposed to gastro-intestinal fluids, enzymes and salts (Oomen *et al.*, 2004). Bile acids, pancreatic enzymes, the dietary environment may play major roles in the extraction of organic compounds from soil in the gastro-intestinal lumen (Oomen *et al.*, 2004). It is also known that physical/chemical properties of the soil, like porosity, pH, clay, and organic matter (OM) content, along with aging, may impact both sequestration and/or release of contaminants (Saghir *et al.*, 2007). The characteristics of the soil OM is thought to be one of the most important factors that determines the strength of interactions between the soil fractions and the organic lipophilic pollutants (Pignatello et Xing, 1996). Thus, the sorption-desorption process would be driven by OM characteristics like condensation (Pignatello, 1998). Furthermore, ample evidence has been gathered *in vitro* that adsorption of lipophilic chemicals to soil particles is positively correlated to OM content (Ping *et al.*, 2006).

The present study was conducted to assess the effects of different OM characteristics on the oral RBA of NDL-PCBs sequestered in two artificial soils amended with 1% of organic carbon in the juvenile swine. Assessment of the relevance of the target tissues and the range of linearity of the response to oral exposure were tested first.

3. Material and methods

a. Experimental design

In order to assess the impact of soil OM condensation on RBA of NDL-PCBs the following study was designed (Figure 44). The first step of the study consisted in assessing the linearity of the NDL-PCBs dose-response pattern. (Figure 44). The following step was aimed at evaluating the impact of OM condensation on the concentration of NDL-PCBs in tissues. Two well-characterized sources of OM were selected to illustrate opposite degrees of condensation: fulvic acid and activated carbon (Figure 44). RBA was estimated by comparing the levels obtained in target tissues (liver, adipose tissue, muscle) of spiked soil-feed or corn oil feed (Wittsiepe *et al.*, 2007).

b. Dosing material

i. Spiked oil

Spiked corn oil containing graded levels of Aroclor 1254 (Sigma-Aldrich, Supelco, Saint-Louis, USA) were used in the first step of the study. Four doses of Aroclor 1254 were prepared in order to achieve these four exposure doses: 3 000 ng Aroclor 1254 per g of spiked oil (1X), 9 000 ng.g⁻¹ (3X), 15 000 ng g⁻¹ (5X), 21 000 ng g⁻¹ (7X) (Figure 44). These exposure doses corresponded respectively to 950 ng of NDL-PCBs per g of spiked oil (1X), 2 800 ng g⁻¹ (3X), 4 700 ng g⁻¹ (5X) and 6 550 ng g⁻¹ (7X). The reference spiked oil was contaminated with 19 200 ng Aroclor 1254 per g of spiked oil corn corresponding to 6 000 ng of NDL-PCBs per g of spiked oil. Corn oil (Sigma Aldrich) was spiked with an adequate volume of a hexane

Experimental design

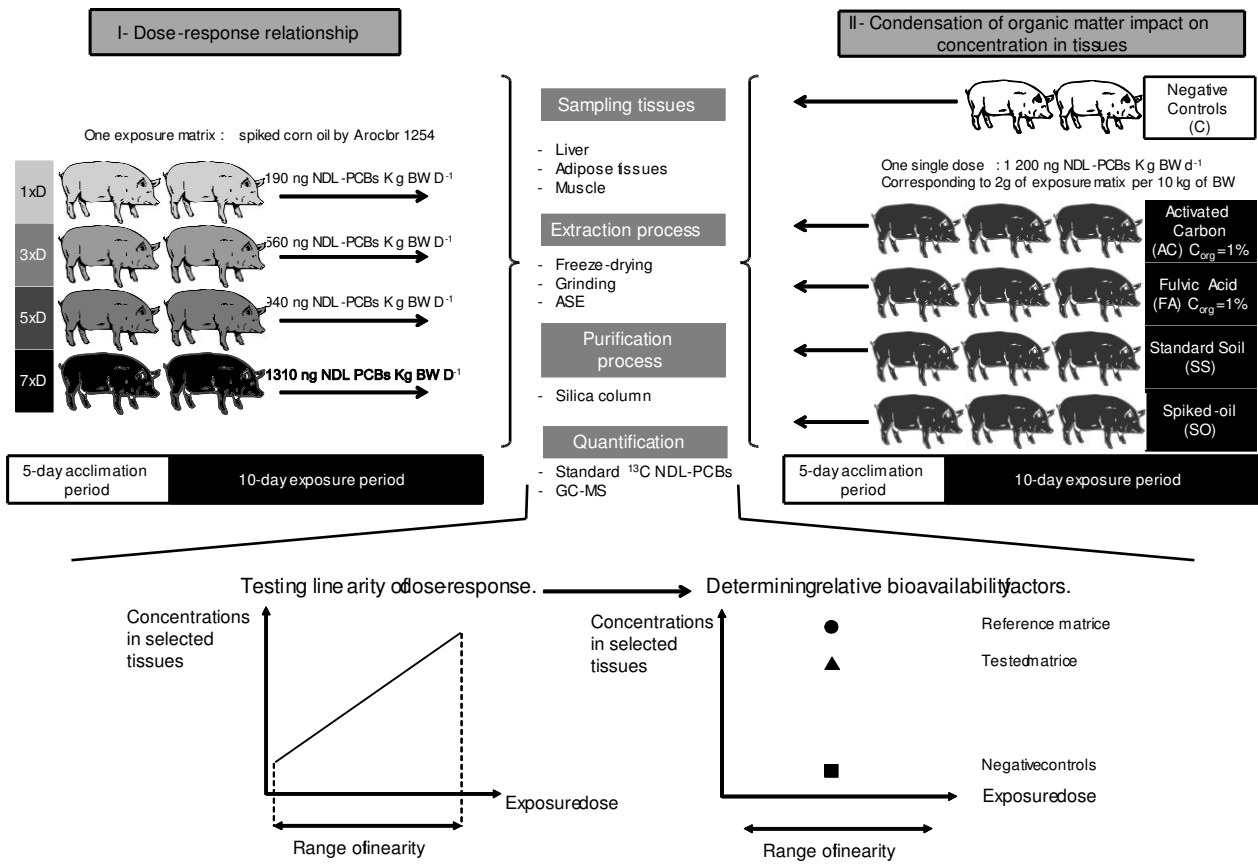


Figure 44 : Animal management and experimental design of the study

solution of Aroclor 1254 (Sigma Aldrich, Supelco). Secondly, hexane was secondly rotary-evaporated over 2 hours and let evaporating under an extractor hood overnight. The difference of weigh of spiked corn oil before and after spiking and evaporation was assessed to determine persistent hexane was less than 1:10 000.

ii. Artificial soils and spiking

Three artificial soils were prepared. They were based on a standard soil (SS) which was prepared according to Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) guideline 207 (OECD, 1984). This soil fulfilled the composition and pH of an OECD artificial soil but the sphagnum peat was not introduced to avoid sorption competition between the different OM phases. One of the studied soils was SS. To identify the incidence of OM on NDL-PCBs bioavailability, two well-characterized OMs were used. fulvic acid was purchased from the International Humic Substances Society (Suwannee River II, IHSS, St. Paul) and introduced in a part of SS to form a fulvic acid amended artificial soil (FA). Secondly activated carbon (Activated carbon, Sigma) was introduced in a part of SS to form an activated carbon amended artificial soil (AC). Fulvic acid and activated carbon were introduced in FA and AC soils respectively in order to achieve a mass concentration of 1% of the organic carbon regarding the whole dry matter (DM) of each soil. The soils were mixed manually thoroughly for 5 minutes until a homogeneous color soil was reached.

An adequate amount of water and PCBs were introduced at the same time in the three artificial soils which were stored in amber glass container. The spiking solution was prepared using milliQ water and the adequate volume of Aroclor 1254 dissolved in methanol to achieve 19 200 ng.g⁻¹ of DM and a moisture content of 17.5%. Expected exposure concentrations in NDL-PCBs are: 7.3 ng.Kg BW⁻¹ (PCB 28), 206 ng.Kg BW⁻¹ (PCB 52), 308 ng.Kg BW⁻¹ (PCB 101), 223 ng.Kg BW⁻¹ (PCB 138), 145 ng.Kg BW⁻¹ (PCB 153) and 26 ng.Kg BW⁻¹ (PCB180). The same amount of spiking solution was introduced in 85g of DM of each artificial soil. The soils were mixed manually thoroughly for 10 minutes until a homogeneous color was reached and methanol was evaporated under an extractor hood overnight. Then, additional water was added to achieve 17.5% of moisture and soils were thoroughly mixed during 10 additional minutes. The containers were mixed on a rolling mill for 24 h and then placed in a 10°C room in static position during 4 weeks to allow correct impregnation aging of NDL-PCBs in soil matrices.

iii. Dough ball manufacturing

Animals were exposed to Aroclor 1254 for 10 days. The daily doses and ration were based on the individual body weight (BW). The oral delivery doses were achieved by transferring a calculated weight of contaminated soil-matrices (200 mg of DM per kg of BW \pm 5%) in the depression of one dough ball. Dough ball were manufactured by squeezing repeatedly 8g of commercial pellets (Porcelet Super VE 25kg, Lorial, Laxou, France) moistened with an adequate amount of milliQ water to obtain dough-like consistency. For the dough ball containing spiked oil, 4g of commercial pellets were pulverized using Analytical mill A 11 (IKA®, Staufen, Germany), mixed with spiked oil and then placed in the depression of 4g of commercial pellets moistened by distilled water.

c. Animals

Each step of the experiment was performed with a distinct group of juvenile swine. Crossbred (Pietrain x Youna[®]) castrated male swine, weaned at 28 days were kept in individual stainless-steel metabolism cages with wire floors and nipple waterers which delivered fresh tap water *ad libitum*. The animals were fed an age-appropriate commercial pelleted swine diet once daily at a level of 5% of body weight (Porcelet Super VE 25kg). All animals were acclimated to the facility during 5 days. One dough ball containing the appropriate dose for acclimation or exposure was hand fed 3 hours prior to ration distribution. An ambient temperature of 26-27°C and a nycthemeral cycle (10 hours light) were maintained in the animal room. Human care of swine and administration of spiked artificial soils and oils were carried out in compliance with the guidelines of the French Ministry of Agriculture for Animal Research.

i. Assessment of the dose-response linearity

Eight swine were acclimated to the facilities and adapted to progressive oil supplementation in hand fed dough balls during 5 days (BW 8.0 ± 0.5 kg). Two swine (n=2) were assigned to each treatment groups 1X, 3X, 5X and 7X. The exposure period of ten days consisted of a daily administration of one moistened dough ball containing the appropriate quantity of one of the four spiked oils to achieve the expected exposure doses.

ii. Assessment of the oral bioavailability

Fourteen swine were acclimated to the facilities and adapted progressively to oil supplementation and geophagia during 5 days (Body Weight 8 ± 0.5 kg). Three swine (n=3) were assigned to each treatment group exposed to one of the four exposure matrices: SS, AC, FA or spiked oil (SO). Two control swine (C) were exposed to a clean standard soil (n=2) through clean dough balls. The exposure period consisted in a daily administration of one moistened dough ball containing the appropriate quantity of one of the four matrices in order to achieve the daily exposure dose (1 200 ng of NDL-PCBs per kg BW).

d. Sampling and analysis of biological samples

After exposure period piglets were slaughtered by electronarcosis immediately followed by exsanguination. After laparotomy, the whole liver was collected after exeresis of the gallbladder, as well as pericaudal adipose tissue and rib-eye muscle (*longissimus dorsi*). All samples were kept in individual boxes and chopped. Then, samples were freeze-dried and pulverized thoroughly using Analytical mill (A 11, IKA®, Staufen, Germany). NDL-PCBs were analyzed by gas chromatography coupled with a mass spectrometer (GC-MS). These analyses involved three successive steps: extraction, purification and quantification. Chemicals used in this study were pesticide residue analytical grade.

i. Extraction

Before extraction, 6 ^{13}C -labelled NDL-PCBs from LGC Standard (Molsheim, France) were added to the various samples studied. After spiking, the solid samples were transferred into Accelerated Solvent Extraction (ASE) cells. Pressure and temperature were set at 100 bar and 120°C respectively. The extraction solvent was a mixture composed of toluene (Sigma-Aldrich, Fluka) and acetone (Sigma-Aldrich, Fluka) at 70:30 (v/v), and three successive extraction cycles (5 min each) were performed by ASE device (ASE 350, Dionex, Sunnyvale, USA). The extracts were redissolved in cyclohexane (Sigma-Aldrich, Fluka) for sample clean up after rotary evaporation.

ii. Purification

The purification process included a glass column (length 50 cm; ID 2.5 cm) which was composed of successive layers including 6.0g ($\pm 0.10\text{g}$) of Florisil (Promochem, Fluka) added with 20 mL of cyclohexane, 5.0g ($\pm 0.10\text{g}$) of anhydrous sodium sulfate (Sigma-Aldrich, Wesel, Germany), 4g ($\pm 0.1\text{g}$) of pure silica gel (Sigma-Aldrich, Fluka) added with 20 mL of cyclohexane (Sigma-Aldrich, Fluka), 8.0 g($\pm 0.20\text{g}$) of silica gel acidified with sulfuric acid (VWR International, Analar, Poole, England) (22%) added with 20 mL of cyclohexane, 10.0 g($\pm 0.25\text{g}$) of silica gel acidified with sulfuric acid (44%) added with 20 mL of cyclohexane and 5.0g ($\pm 0.10\text{g}$) of anhydrous sodium sulfate.

Prior to elution the column was washed with 80 mL of cyclohexane. PCBs were eluted in the same flask with 150 mL cyclohexane. Elutes were evaporated until dryness after spiking with injection standard of ^{13}C labeled 111-PCB (LGC Standard) and reconstituted with toluene (Sigma-Aldrich, Fluka).

iii. Quantification

PCBs analyses were performed by GC-MS (7 890A, Agilent Technologies, Santa Clara, USA). The mass spectrometer was set at a resolution of 10 000, in electron ionisation mode (70 eV electron energy) (5 975C, Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Single Ion Monitoring (SIM) was used to record the two most abundant signals. A DB5MS (30 mx0.25 mmx0.251m) capillary column from Agilent J&W (Agilent Technologies) was used in splitless mode. The GC temperature program for PCBs analysis was the following: 110°C (1 min), 20°C.min⁻¹ to 200°C (0 min) and 2°C.min⁻¹ to 230°C and 5°C.min⁻¹ to 270°C and 10°C.min⁻¹ to 300°C (5min). Signals were integrated using Chemstation (chemstation E.02.00, Agilent Technologies, Santa Clara, USA). To avoid any over estimation the control samples were injected at the beginning of the experiment.

e. Calculations and statistical analyses

i. Assessment of linearity

Linearity of the dose response of NDL-PCBs concentration to ingested NDL-PCBs was assessed by regression analysis performed by means of the REG procedure of SAS (9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA).

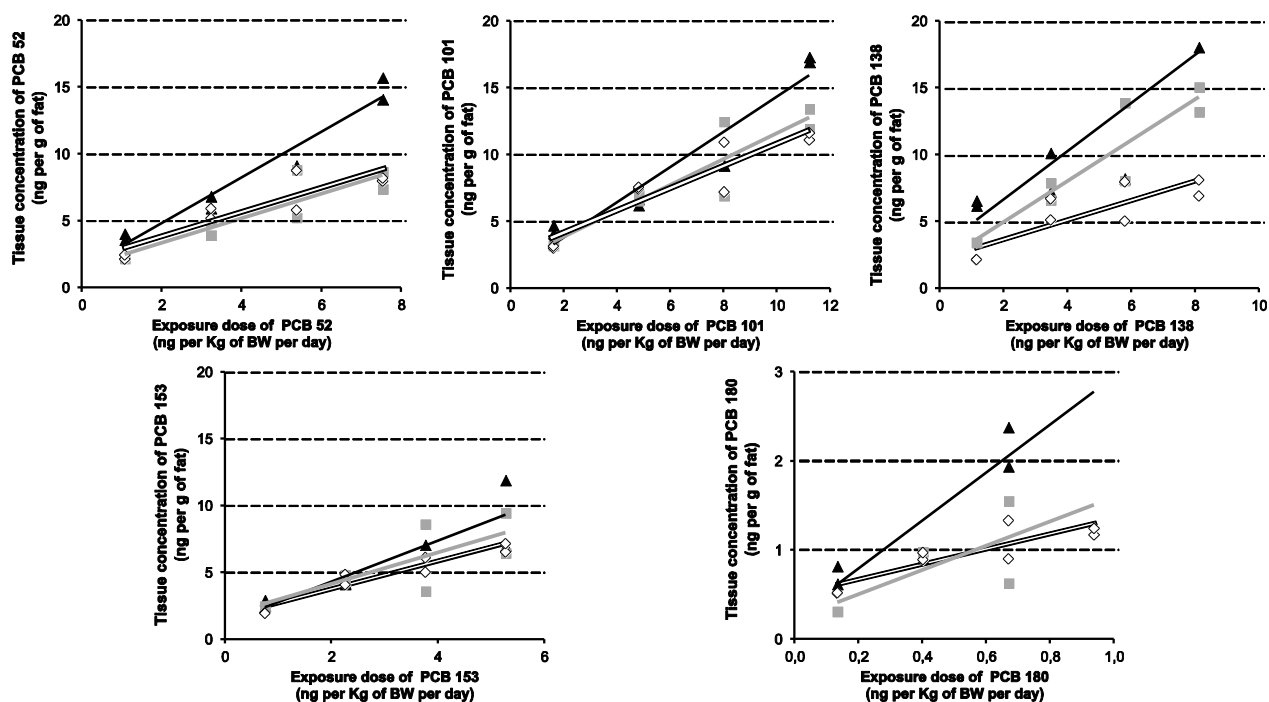


Figure 45 : Dose-response relationships of NDL-PCBs in liver, muscle and adipose tissue

(values are presented respectively by full triangles ▲, grey squares ■, empty diamonds ◇ ; n=2) to the amount ingested originating from spiked oil. Parameters of the linear models are presented in Tableau 12 (respective curves are fitted by full black lines, grey and white ones).

		Estimated slope ± SE.	Estimated in-tercept ± SE.	LOQ	Calculated R ²	RMSE
PCB 52	<i>Adipose tissue</i>	0.123 ± 0.010 ***	NS	0.278	0.82	1.37
	<i>Muscle</i>	0.117 ± 0.001 ***	NS	1.17	0.77	1.28
	<i>Liver</i>	0.195 ± 0.001 ***	NS	1.25	0.96	1.16
PCB 101	<i>Adipose tissue</i>	0.082 ± 0.013 ***	2.45 ± 0.960 ***	0.292	0.87	1.15
	<i>Muscle</i>	0.119 ± 0.001 ***	NS	0.813	0.81	1.75
	<i>Liver</i>	0.145 ± 0.001 ***	NS	0.360	0.92	1.55
PCB 138	<i>Adipose tissue</i>	0.107 ± 0.011 ***	NS	0.934	0.71	1.72
	<i>Muscle</i>	0.183 ± 0.013 ***	NS	3.52	0.83	2.23
	<i>Liver</i>	0.229 ± 0.024 ***	NS	1.08	0.78	3.89
PCB 153	<i>Adipose tissue</i>	0.105 ± 0.012 ***	1.55 ± 0.430 ***	0.220	0.92	1.55
	<i>Muscle</i>	0.161 ± 0.019 ***	NS	0.824	0.57	1.92
	<i>Liver</i>	0.184 ± 0.018 ***	NS	0.394	0.80	2.16
PCB 180	<i>Adipose tissue</i>	0.084 ± 0.019 **	0.490 ± 0.116	0.309	0.77	0.14
	<i>Muscle</i>	0.176 ± 0.040 *	NS	1.64	0.43	0.36
	<i>Liver</i>	0.315 ± 0.031 ***	NS	0.316	0.86	0.29

Tableau 12 : Parameters of the linear dose-response relationships between NDL-PCBs doses (ng.Kg BW⁻¹.d⁻¹) and retrieved concentration in adipose, muscular and hepatic tissues (ng.g⁻¹ of fat)

A sequential fitting was performed in order to suppress insignificant parameters. P-value and resulting model originated of parameters values are presented.

RMSE: Root means square error.

P-value of parameters are presented in front of each value: NS > 0.10; * < 0.05; ** < 0.01; *** < 0.001.

The linear and the quadratic effects of PCBs ingested ($\text{ng.g}^{-1} \text{ BW.d}^{-1}$) were tested. Where not significant ($P > 0.10$) the quadratic term was removed from the model and the response was declared linear.

iii. Incidence of condensation of OM on bioavailability

In order to evaluate the incidence of contaminated matrices on bioavailability a variance analysis were performed. For each congener, values below the limit of quantification (LOQ) were replaced by LOQ/2 to avoid missing data. Statistical analyses were carried out using SAS (9.1, SAS Institute). Each piglet was considered as an experimental unit. Concentrations of each NDL-PCB congener in liver, muscle, and adipose tissue were analyzed using the GLM procedure. The model included the exposure media (AC, FA, SS, SO, $n=3$ and C, $n=2$). A Tukey–Kramer test was used for comparison of means. Differences were considered significant for $P < 0.05$.

iv. Relative bioavailability factors (RBA) calculation

In order to compare the bioavailability from the two exposure media (soil and oil), the relative bioavailability in a selected tissue was calculated as the ratio of the bioavailability in soil and the bioavailability in oil, adapted from a method preliminary described (Wittsiepe *et al.*, 2007). Estimation of bioavailability in one matrix of exposure m in a selected tissue t was calculated as the ratio of the mass of a PCB-NDL-congener p in the tissue to the administered mass of the same congener from soil or oil multiplied by 100%. Because no significant differences were found considering ratio of masses of sampled tissues on BW each treatment-group, it was assumed that masses of each tissue were similar. Calculation of RBA was performed using the ratio of the adjusted means of concentrations of NDL-PCBs congener in tissues after a soil and an oil exposure after subtracting concentration founded in controls.

$$\text{RBA}_{m,t,p} = \frac{C_{m,t,p \text{ soil}} - C_{controls,t,p}}{C_{m,t,p \text{ oil}} - C_{controls,t,p}}$$

4. Results

The animals remained healthy throughout the experiment. During the exposure period, daily ingestion and growth performance were unaffected by treatments. Thus the average daily gain was 0.24 ± 0.03 kg of BW.d^{-1} (mean \pm SD, $P > 0.10$) in the first step and 0.27 ± 0.04 kg of BW.d^{-1} for the second one (mean \pm SD, $P > 0.10$). At the end of first experiment piglets weighed 9.04 ± 1.22 kg of BW (mean \pm SD, $P > 0.10$), and after the follow up one 9.98 ± 0.72 kg of BW (mean \pm SD, $P > 0.10$).

a. Assessment of the dose-response linearity

Limits of quantification are presented in Tableau 12. Since levels of PCB 28 were found to be mainly below LOQ, this congener was not further considered. Data concerning one animal (dose 5X) was not considered in the statistical analysis because of abnormally high concentrations. Regression analysis for

		C	AC	FA	SS	SO	Exposure media	RMSE	
PCB 52	<i>Adipose Tissue</i>	0.934 ^a	1.37 ^a	8.70 ^b	11.4 ^{bc}	15.0 ^c	█	<0,001	2.1
	<i>Muscle</i>	0.583 ^{a(2)}	1.83 ^a	6.21 ^{ab}	7.88 ^b	9.11 ^b		0.003	2.0
	<i>Liver</i>	2.29	3.10 [#]	12.9	12.1 [#]	20.4		0.351	10.3
PCB101	<i>Adipose Tissue</i>	0.505 ^a	1.83 ^a	13.8 ^b	13.6 ^b	16.8 ^b	█	<0,001	1.7
	<i>Muscle</i>	0.407 ^{a(2)}	2.24 ^a	9.73 ^b	13.2 ^b	12.2 ^b		<0,001	1.5
	<i>Liver</i>	1.27 ^a	2.37 ^a	10.1 ^{ab}	17.4 ^{bc}	23.5 ^c		<0,001	4.1
PCB138	<i>Adipose Tissue</i>	0.467 ^{a(2)}	1.75 ^a	14.6 ^b	11.8 ^b	14.4 ^b	█	0.003	3.6
	<i>Muscle</i>	1.76 ^{ab(2)}	1.76 ^{ab(3)}	11.7 ^{bc}	15.5 ^c	14.8 ^c		0.001	3.3
	<i>Liver</i>	1.56 ^{ab}	2.57 ^a	24.9 ^{abc}	27.9 ^{bc}	34.9 ^c		0.005	8.9
PCB153	<i>Adipose Tissue</i>	1.19 ^a	1.97 ^a	12.5 ^b	10.8 ^b	15.0 ^b	█	<0,001	2.3
	<i>Muscle</i>	0.626 ^{a(1)}	2.59 ^a	9.06 ^{ab}	13.4 ^b	12.9 ^b		0.004	3.3
	<i>Liver</i>	4.35 ^a	3.19 ^a	23.3 ^b	23.3 ^b	27.0 ^b		0.002	5.7
PCB180	<i>Adipose Tissue</i>	0.154 ^{a(2)}	0.493 ^a	2.37 ^b	2.45 ^b	2.45 ^b	█	<0,001	0.5
	<i>Muscle</i>	0.821 ^{ab(2)}	0.821 ^{a(3)}	1.78 ^b	2.59 ^c	2.45 ^{bc}		0.010	0.6
	<i>Liver</i>	0.530 ^{ab#}	0.618 ^a	4.31 ^b	4.21 ^b	4.56 ^b		0.010	1.2
∑PCB	<i>Adipose Tissue</i>	3.38 ^{a(2)}	8.96 ^a	72.6 ^b	68.3 ^b	89.9 ^b	█	<0,001	12.5
	<i>Muscle</i>	4.54 ^{a(2)}	10.6 ^{a(3)}	51.5 ^b	66.7 ^b	65.6 ^b		<0,001	10.7
	<i>Liver</i>	11.1 ^{a#}	14.5 ^a	87.6 ^b	95.5 ^b	124 ^b		<0,001	20.6
RBA factors	<i>Adipose Tissue</i>		6.4% [¤]	80.0% [§]	75.0% [§]				
∑PCB	<i>Muscle</i>		9.9% [¤]	76.9% [§]	101.8% [§]				
	<i>Liver</i>		3.0% [¤]	67.8% [§]	74.8% [§]				

Tableau 13: Concentrations (ng.g⁻¹ of fat) and relative bioavailability factors of NDL-PCBs in liver, muscle and adipose tissue

Values are adjusted means (n=3 for AC, FA, SS and SO groups; n=2 for C).

Letters (a, b, c) indicates values that do not statistically differ from other values within column presenting a common letter (P<0.05)

Numbers into brackets indicate values below LOQ replaced by LOQ/2

indicates that one value is missing.

¤ indicates that RBA factor does not statistically differ from 0%.

§ indicates that RBA factor does not statistically differ from 100%.

RMSE : Root means square error.

PCBs 52, 101, 138 and 153 demonstrated significant linear relationships ($P < 0.01$) between the administered doses and the levels of NDL-PCBs analyzed in adipose, hepatic and muscular tissues whereas the quadratic terms were not significant ($P > 0.10$, Tableau 12). No conclusions could be reached considering PCB 180 results because of integration issues in some chromatograms. Considering the coefficient of determination (R^2) equal or over than 0.77 for subcutaneous fat, 0.77 for hepatic tissue and 0.71 for muscular one, linear equations provided reliable predictions of dose-response relationships in these tissues in the tested range of dose (3 000 ng – 21 000 ng of Aroclor 1254 per kg of BW) (Tableau 12). The intercepts did not differ from zero ($P > 0.10$) except for 3 NDL-PCBs in adipose tissue. Higher slopes of dose-responses were found in hepatic tissues when compared to muscles or adipose tissue (Tableau 12).

b. Incidence of condensed OM on RBA

Regardless of the contamination media, PCB 28 levels were below LOQs and were not included in the data set. NDL-PCBs concentrations in all analyzed tissues (hepatic, muscular and subcutaneous fat) were above LOQs in C for all other congeners. The highest levels of NDL-PCBs were recovered in tissue samples from piglets contaminated by SO, SS and FA spiked with the same amount of Aroclor 1254 (6 000 ng.g⁻¹ of soil DM corresponding to a similar exposure dose of 1 200 ng.kg⁻¹ of BW). Thus, the lowest levels of NDL-PCBs were observed in the AC and in the C groups.

The ratio of means by treatment indicated that NDL-PCBs levels in tissues after AC treatment were higher than after C exposure (1.3 to 5.2 times higher) and much lower than the SO reference tissues (5.2 to 9.8 times lower). Two distinct groups of treatments composed by “SO, SS, FA” on the one hand and “AC, C” on the other one ($P < 0.05$) could be differentiated (Tableau 13). The exposure media effect was significant ($P < 0.02$) except in liver for PCB 52. Higher levels were found in liver than in muscles (1.4 to 1.7 times higher considering ratios between sum of 5 NDL-PCBs) and in adipose tissue (1.2 to 1.4 times) (Tableau 13). Calculated RBA factors were estimated for the NDL-PCBs sum (5 NDL-PCBs) (Tableau 13).

5. Discussion

Although the historic of contamination of the experimental animals were known, most control tissues presented quantifiable levels of NDL-PCBs (above LOQs, Table 1). These basal levels were always far below the levels set in regulation (40 ng per g of fat) (European Commission, 2011). Despite formal banning of PCBs use in France since 1989, PCBs are known to be persistent and ubiquitous contaminants of the environment (Meijer *et al.*, 2003). Thus, noticeable levels of PCBs were found in several environmental matrices (soil and sediments) without a known history of contamination (Meijer *et al.*, 2003).

The experimental design of this RBA study required a validation step. Indeed, the need to determine the dose-response pattern in order to evaluate the representativeness of final concentrations of NDL-PCBs in tissues related to an ingested dose of contaminants appeared as a major point. In fact, it is known that

ample variability exists between individuals among applied doses (U.S. EPA, 2007d). This variability tends to increase as the dose increases, resulting to a rise of variance. Among factors that could lead to the increase of the variance, metabolism induction which is depending on individual susceptibility and the applied dose, is known to be one of the most important (Devito *et al.*, 1993 ; Tang *et al.*, 2006). The linearity of the dose-response in the tested range of doses validates the correspondence between the ingested doses and the final concentrations of NDL-PCBs in the studied organs.

No significant different behaviors could be noticed between PCBs from SS, FA, SO whereas far lower concentrations were found after AC treatment. Since OC content were equal for FA and AC treatments, this study reveals that the quality of the OM pilots the retention of PCBs during the digestive process in piglets. It demonstrates therefore that carbon organic content should be analyzed in regards with characteristics of this OM to determine potentialities of bioavailability reduction of this media. This study also highlights that poorly condensed OM, like fulvic acids, does not significantly reduce bioavailability compared to the reference matrix, SO. Some hindsight concerning bioavailability of pharmaceutical apolar compounds like furosemide tends to show that this sort of OM should even increase bioavailability of such compounds (Agarwal *et al.*, 2008 ; Agarwal *et al.*, 2007). However no statistical evidence was achieved to confirm or infirm this hypothesis comparing SS and FA treatments. Activated carbon is a manufactured and clean type of black carbon and is often used to model this carbonaceous, ubiquitous and highly condensed organic material (Cornelissen *et al.*, 2006 ; Saghir *et al.*, 2007 ; Zimmerman *et al.*, 2004). Black carbon is already known to provide strong binding with apolar contaminants like PAHs resulting in a physical trapping and reducing desorption processes and bioavailability to limbic and mammals (Pikaar *et al.*, 2006). Activated carbon is also suggested as an efficient way to remediate contaminated areas by geosorbing apolar compounds (Cornelissen *et al.*, 2006 ; Jakob *et al.*, 2012 ; Zimmerman *et al.*, 2004). Nanoporosity of black carbon has been previously demonstrated as responsible for sorption of pollutants (Pignatello, 1998). An industrial and highly nanoporous activated carbon introduced in a simple artificial soil, was employed during the current experiment to evaluate potentialities of reduction offered by this kind of media during the digestive process. It appeared that activated carbon dramatically reduced RBA of NDL-PCBs resulting to less considerably exposition to these pollutants through direct ingestion of contaminated soil. However this apparently heavy sequestration correspond to an activated carbon particularly well-known for its notable surface specific area, far higher than commonly observed in black carbon (Koelmans *et al.*, 2006) and simple artificial soils. The total organic carbon chosen (1%) ranges in the limit low concentrations found in soils whatever land use (Agarwal 2011). Median black carbon as a fraction of total organic carbon content (BC/TOC) has been previously reported to be 4% in soils (Cornelissen *et al.*, 2005). However much higher levels were found in fire-impacted soils where black carbon reached 30 to 45% of total organic carbon (Cornelissen *et al.*, 2005). These considerations let us considerate as possible such levels of organic carbon and black carbon in natural soils. PCBs concentrations employed correspond to 1 000 folds medium known-levels concentrations found in soils without historic of contamination (19 500 pg/g) (Meijer *et al.*, 2003). These

concentrations correspond also to those found in some industrial areas (Schuhmacher *et al.*, 2004). Therefore this huge reduction of bioavailability may be overestimated comparing to what may occur in naturally contaminated soils.

Thus the main interest of this study was to simulate extreme conditions with a same amount of organic carbon (OC) either in the form of AC or in the form of FA. No other OM was used during processing of the artificial soils in order to ensure no competition effect between different phases of OM (Burgess *et al.*, 2005). Indeed, sorption of activated carbon in environmental matrices could be weaker than those reported using activated carbon alone. Blockage of sorption of lipophilic apolar contaminants sites in complex matrices by several compounds like natural organic matter (Pignatello *et al.*, 2006) or lipids components (Kwon et Pignatello, 2005) are known to decrease sorption in environmental matrices.

6. Conclusion

Characteristic of the OM pilots the retention of PCBs during the digestive process in piglets. Indeed, it appears that condensed OM (AC) strongly reduces bioavailability whereas the less condensed one (FA) does not seem to have a significant effect. These elements are of great interest for further investigations in terms of risk assessment in contaminated areas.

7. Acknowledgements

The authors are grateful to the French Ministry for Agriculture and Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie for their financial support. They thank S. Denys (ANSES) for scientific comments, T. Duval (URAFPA) and C. Grandclaoudon (URAFPA) for NDL-PCBs analyses and P. Hartmeyer (URAFPA) and H. Toussaint (URAFPA) for providing care to piglets.

5

Impact de matières organiques standardisées sur la biodisponibilité relative

Introduction

La biodisponibilité des PCB du sol peut être fortement impactée par la qualité de la matière organique (*cf* chapitre précédent). Ainsi, dans l'étude précédente les deux sols contenant des matières organiques contrastées, l'acide fulvique et le charbon actif ont montré des BR très contrastées. La première n'a pu être distinguée de l'huile (acide fulvique, BR de 100%) et l'autre des témoins (charbon actif, BR de 0%).

Le chapitre suivant explore les niveaux de biodisponibilité pouvant être obtenus lors d'emploi de matières organiques standardisées présentant des caractéristiques variées :

- deux matières organiques solubles, l'acide fulvique et les acides humiques,
- deux types de charbon actif (un sous forme de poudre (DARCO®) et l'autre sous forme de granulé (ORBO®).
- enfin une matière organique plus complexe, la tourbe de Sphaigne a été utilisée seule ou avec du charbon actif.

Dans l'ensemble de ces cas, les matières organiques ont été introduites dans les mêmes proportions, à raison de 1% de C_{org}.

L'objectif de cette partie est d'évaluer les effets de matières organiques standardisées de qualités contrastées sur la biodisponibilité relative des PCB-NDL.

Cette partie est basée sur une publication intitulée «*Effects of standard humic materials on relative bioavailability of NDL-PCBs in juvenile swine*», acceptée par la revue *Plos One* en décembre 2014. L'article présente, ainsi, un essai expérimental réalisé sur porcelets. Le tissu cible du calcul de la biodisponibilité relative est le tissu adipeux péri-caudal.

Delannoy, M., Schwarz, J., Fournier, A., Rychen, G. and Feidt, C. (2014). Effects of standard humic materials on relative bioavailability of NDL-PCBs in juvenile swine. *Plos One*, 9(12): e115759

ARTICLE 2:
EFFECTS OF STANDARD HUMIC MATERIALS ON RELATIVE BIOAVAILABILITY OF NDL-PCBS
IN JUVENILE SWINE

Matthieu Delannoy, Jessica Schwarz, Agnès Fournier, Guido Rychen, Cyril Feidt.

1. Abstract.

Young children with their hand-to-mouth activity may be exposed to contaminated soils. However few studies assessing exposure of organic compounds sequestered in soil were realized. The present study explores the impact of different organic matters standards on retention of NDL-PCBs during digestive processes using commercial humic substances in a close digestive model of children: the piglet. Six artificial soils with or without organic matter were used. One standard soil, devoid of organic matter, and five amended versions of this standard soil with either fulvic acid, humic acid, *Sphagnum* peat activated carbon or a mix of *Sphagnum* peat and activated carbon (95:5) (SPAC) were prepared. In order to compare the different treatments, we use spiked oil and negative control animals. Forty male piglets were randomly distributed in 7 contaminated and one control group (n=5 for each group). During 10 days, the piglets were fed artificial soil or a corn oil spiked with 19 200 ng of Aroclor 1254 per g of dry matter (6 000 ng.g⁻¹ of NDL-PCBs) to achieve an exposure dose of 1 200 ng NDL-PCBs.Kg⁻¹ of body weight per day. NDL-PCBs in adipose tissue were analyzed by GC-MS. Fulvic acid reduced slightly the bioavailability of NDL-PCBs compared to oil. Humic acid and *Sphagnum* peat reduced it significantly higher whereas activated carbon reduced the most. Piglets exposed to soil containing both activated carbon and *Shagnum* peat exhibited a lower reduction than soil with only activated carbon. Therefore, treatment groups are ordered by decreasing value of relative bioavailability as following: oil ≥ fulvic acid > *Sphagnum* peat ≥ *Sphagnum* peat and activated carbon ≥ Humic acid >> activated carbon. This suggests competition between *Sphagnum* peat and activated carbon. The present study highlights that quality of organic matter does have a significant effect on bioavailability of sequestered organic compounds.

2. Introduction

Numerous epidemiological studies assessing neuropsychological impact of developmental exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) have linked neurobehavioral impairments with pre- or early postnatal exposure. Several cohort studies in children (at 7 months of age and at 4 years of age) related PCB exposure to a possible deficit of memory (Schantz *et al.*, 2003). In rats, following a perinatal exposure, similar results

Study design

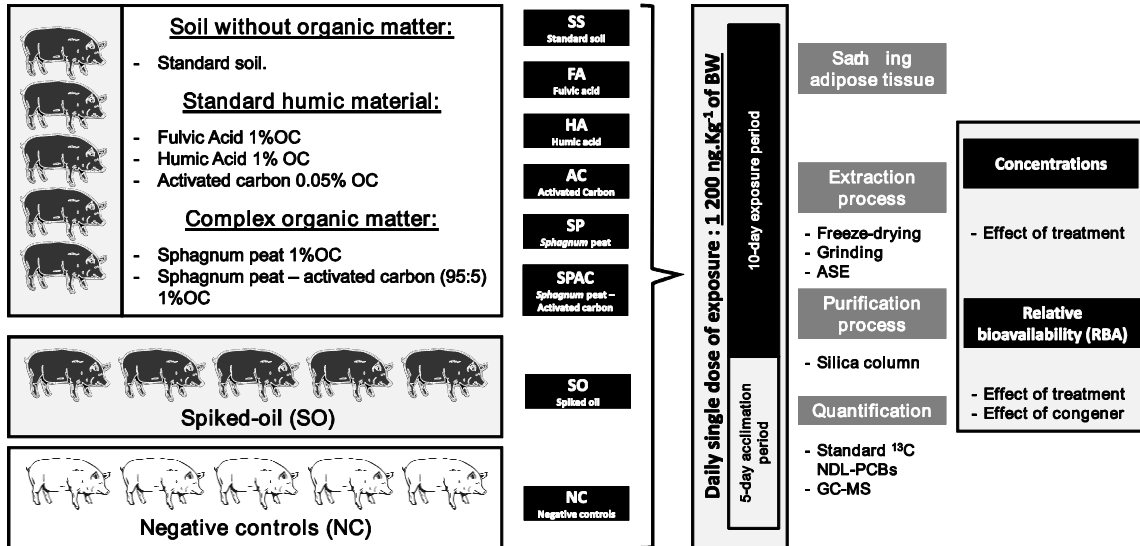


Figure 46: Animal management and experimental design of the study

were obtained (ATSDR, 2000 ; Corey *et al.*, 1996 ; Lilienthal et Winneke, 1991), even at environmentally low doses (Elnar *et al.*, 2012). Although toxicity pathways are not accurately known, some studies emphasize the major role of non-dioxin like PCB (NDL-PCBs) congeners (Boix *et al.*, 2010 ; Boix *et al.*, 2011). Numerous former industrial sites are known to be contaminated by those NDL-PCBs (EFSA, 2010 ; Meijer *et al.*, 2003). This makes them almost ubiquitous in the environment, mainly in soil. Children are particularly susceptible to incidentally ingest those soil as they may exhibit hand-to-mouth activities. Thus assessing exposure to pollutants from contaminated soils is an important issue in terms of safety management. Because digestive processes are known to be species dependent, the choice of an appropriate animal model is a critical issue for this risk assessment. Indeed, interspecies variability constitute an emerging concern for organic compounds (OC) (Budinsky *et al.*, 2008) since gastrointestinal absorption differs as also reported for metallic ions (Casteel *et al.*, 2006 ; Oomen *et al.*, 2004). In order to achieve a quantity of PCBs relative to body weight under experimental conditions comparable to contaminated soil ingested by toddlers, the juvenile swine appears to be a valuable model. With a relative similarity of physiology, growth and absorptive mechanisms than humans, swine model is more and more used to study oral bioavailability of pollutants in ingested soil (Budinsky *et al.*, 2008 ; Casteel *et al.*, 2006 ; U.S. EPA, 2007b).

Thoroughly understanding the processes and mechanisms governing sequestration and mobility of Persistent Organic Pollutants (POPs) in soil during digestion is an important issue to address. As the 6 NDL-PCBs exhibit a wide range of lipophilic and stability properties, as well as an affinity for organic carbon, they are a challenging group to study. Indeed, their fate in the digestive system seems related to chemical and physical properties of the tested contaminant and its interaction and partition among the different constituents of the soil. In this perspective organic matter (OM) is commonly considered as the most important fraction limiting bioavailability of POPs in soil (Pignatello, 1998 ; Yang *et al.*, 2010). In addition, the soil humic fraction has been previously reported to considerably retain NDL-PCBs (Doick *et al.*, 2005). Humic material has empirically been divided in three different fractions which could be obtained by acid-base extractions: 1/ fulvic acid (FA) consists in a soluble fraction at any pH; 2/ humic acid (HA) in a fraction soluble in base solutions but precipitating at pH<2; and 3/ humin which is a fraction insoluble in an aqueous solution at any pH (Doick *et al.*, 2005). Because there is a lack of information on the mechanisms driving retention of POPs in each of the humic phases along the digestive processes, the impact of soil sequestration on NDL-PCBs bioavailability is not totally understood.

In a pilot study we focused on two contrasted organic matters opposed by their condensation degrees. Fulvic acid and activated carbon, were used to highlight the importance of differences in bioavailability induced by the type of OM (Delannoy *et al.*, 2014). This pilot study was performed and revealed that FA exhibited no retention of NDL-PCBs during digestive processes whereas 1% of activated carbon (AC) achieved almost complete sequestration of NDL-PCBs (Delannoy *et al.*, 2014).

As natural soils presented a wide range of different qualities, the present study was conducted to assess the effects of different standardized OM of different humic fractions on the oral RBA of sequestered NDL-PCBs in the juvenile swine by feeding them artificial soils containing PCBs and 1% of organic carbon. In addition to this standards, one complex mixture of OM and the effect of competition between different sources of OM were tested.

3. Materials And Methods

a. Experimental design

The experimental design to assess the impact of different OM qualities on relative bioavailability (RBA) of NDL-PCB is shown in Figure 46. Eight groups of piglets were fed one of the eight experimental treatments for 10 days. RBA was estimated using concentrations of NDL-PCBs in adipose tissue of artificial soil-fed and corn oil-fed animals (Delannoy *et al.*, 2014 ; Wittsiepe *et al.*, 2007).

Five swine were randomly assigned to each treatment group exposed to one of the eight exposure matrices (*cf* Table 1). The group of negative control (NC) swine was fed a non-contaminated standard soil (n=5) and all animals were sacrificed at the end of the contamination period (day 10). During the exposure period (day 1 to day 10) piglets were administered daily a moistened dough ball with either the spiked oil or the experimental soil (200 ± 10 mg dry matter (DM).Kg⁻¹ of body weight (BW)) containing 1 200 ng of NDL-PCBs per kg BW. This comparison between oil-fed and soil-fed animals groups was realize in order to assess exposure to spiked soil with OM in terms of exposure *via* the alimentary one. Similar methodology was previously used (Bouveret *et al.*, 2013 ; Fournier *et al.*, 2012 ; Jondreville *et al.*, 2013). The present study provides RBA estimates using a single dose comprised in a linearity-tested range of doses (Delannoy *et al.*, 2014).

b. Animals, ethics and housing

Crossbred (Pietrain x Youna®) castrated male swine (7.6 ± 1.4 , mean \pm SE), weaned at 28 days of age were used. A 5-day acclimation period was realized prior to the start of the contamination. Housing and food management were previously described (Delannoy *et al.*, 2014). Shortly, animals were housed individually in stainless-steel cages with wire floors in the animal facility of URAFPA (Université de Lorraine, Vandœuvre-les-Nancy France). Temperature was kept to 26-27°C. Every 2 days, BW of piglets was monitored. Feed (Porcelet Super VE 25 Kg, Lorial, Laxou, France) was provided daily at 4.5% of BW. Access to feed were provided one hour after administration of treatment. Daily ingestion was estimated by subtracting leftovers from provided ration. Water was provided *ad libitum* by nipple waterers throughout the entire study. This study was carried out in strict accordance with the recommendations in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the French Ministry of Agriculture for Animal Research (MAAR) and European Council Directive (European directive 2010/63/EU). Furthermore, the protocol was approved by

the "Comité d'Éthique Lorrain en Matière d'Expérimentation Animale (CELMEA)" (Permit Number: 00344.01, delivered by the secretariat of Ministère de l'Éducation Supérieure et de la Recherche, France).

c. Dosing material and method of exposure to NDL-PCBs

i. Exposure matrices

Spiked oil (SO) was prepared as a reference matrix using corn oil (Sigma Aldrich, St Louis, USA). In addition, eight artificial soils were prepared as described in Tableau 14 according to the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) guideline 207 (OECD, 1984). The standard soil (SS) contained sand and kaolin only (Sigma-Aldrich). This soil fulfilled composition and pH of an OECD artificial soil except for the *Sphagnum* peat, which was not introduced to avoid sorption competition between the different OM. In addition to the SS, two different sets of artificial soils were used. The first set of three soils contained simple and well characterized organic matter: SS plus fulvic acid (FA) (Suwannee River II, IHSS, St. Paul, USA), SS plus humic acid (HA) (Humic acid, Sigma Aldrich) and SS plus activated carbon DARCO® (Sigma Aldrich). The second set containing two soils with complex organic matter: SS plus *Sphagnum* peat (SP) and SS plus a mix of *Sphagnum* peat and activated carbon DARCO® (95:5) (SPAC). Each organic matter was introduced at the same concentration of 1% of organic carbon as this soil characteristic may impact on the capacity of retention of NDL-PCBs. One exception has been realized for the soil containing activated carbon DARCO® (AC) which was introduced at 0.05%. This difference was made in order to compare retention of the mix of peat and activated carbon with a soil containing the same concentration of activated carbon as the only source of OM. Chemicals used, spiking techniques and preparation of soils are described in Tableau 14 and were realized as previously detailed (Delannoy *et al.*, 2014).

ii. Spiking technique

All the seven matrices (oil and soils) were spiked with 19 200 ng of Aroclor 1 254 (Sigma Aldrich, Supelco) per g of DM. Resulting amounts corresponded to 6 000 ng of NDL-PCBs per g of DM of spiked oil. This single dose is comprised in a tested range of doses (Delannoy *et al.*, 2014). Because linearity was prior validated, concentrations in adipose tissue are proportional to absorbed dose of NDL-PCBs (Budinsky *et al.*, 2008 ; Delannoy *et al.*, 2014 ; Fournier *et al.*, 2012). After spiking soil and oil matrices, solvent traces were evaporated under an extractor hood overnight. All soils were stored at 20°C in amber glass vials during three weeks of maturation prior to the first day of exposure. Oil was stored at 4°C in amber glass vials.

d. Sampling and analysis of biological samples

After 10 days of exposure piglets, electronarcosis was induced prior immediate exsanguination. Pericaudal adipose tissue was collected. Adipose tissue as used in this study is known to be the most important tissue for distribution and accumulation of NDL-PCBs in mammals (ATSDR, 2000). All analytical steps from preparation of samples (freeze-drying, milling) to chemical analyses were realized as described before (Delannoy *et al.*, 2014). In short, these analyses involved three successive steps (Figure 46). Assisted solvent

	Corn Oil	Sand	Kaolin	Fulvic acid	Humic acid	<i>Sphagnum</i> peat moss	Activated carbon	Aroclor 1254	Time of maturation
	(Sigma-aldrich, St Louis, USA)	See Sand (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Germany)	(Sigma-aldrich, St Louis, USA)	Swanee River FA standard I (IHSS, St Paul, USA)	(Sigma-aldrich, St Louis, USA)	(Sphagnum peat moss from baltic countries, Verve®, France)	Darco ® (Sigma-aldrich, St Louis, USA)	Concentration ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ of DM)(Sigma-aldrich, Supelco)	in days
Spiked corn oil (SO)	100%	-	-	-	-	-	-	19.2	-
Standard soil (SS)	-	77.80%	22.20%	-	-	-	-	19.2	21
Fulvic acid (FA)	-	76.20%	21.90%	1.92%	-	-	-	19.2	21
Sphagnum peat (SP)	-	76.00%	21.70%	-	-	2.33%	-	19.2	21
Humic Acid (HA)	-	75.80%	21.70%	-	2.56%	-	-	19.2	21
Sphagnum peat and activated carbon (SPAC)	-	75.80%	21.70%	-	-	2.38%	0.05%	19.2	21
Activated carbon DARCO® (AC)	-	77.70%	22.20%	-	-	-	0.05%	19.2	21
Negative controls (NC)	-	77.80%	22.20%	-	-	-	-	-	21

Tableau 14: Composition of the different artificial soils and treatment of the experiment

extraction from freeze-dried and milled samples of adipose tissue was performed (ASE 350, Dionex, Sunnyvale, USA) and ^{13}C -labelled NDL-PCBs from LGC Standard (Molsheim, France) were added as internal standards. Then purification was realized using acidified silica columns (Silica gel and Sulfuric acid, Sigma-aldrich) and ^{13}C -labelled PCB 111 (Molsheim, France) was added as external standard. Finally quantification was achieved by a GC-MS (7 890A, Agilent Technologies, Santa Clara, USA). All chemicals used in this study were pesticide residue analytical grade. Details are provided in previous publication (Delannoy *et al.*, 2014).

e. Data analyses

i. Quality control of the data set

Regardless the treatment group, PCBs 28 levels were beneath the limit of quantification and were not incorporated in the data set. Data from 2 piglets were excluded from analysis because these piglets presented digestive issues before and during the exposure part of the experiment (diarrhoea, low daily food intake and weight gain). These issues could affect PCB absorption. Two additional values for PCB 52 were lower than the limit of quantification.

ii. Effect of OM on NDL-PCBs' adipose tissue concentrations

In order to assess the impact of the different matrices on bioavailability of the contaminant variance analyses were performed. Concentrations of each NDL-PCB congener in adipose tissue were compared between the different treatment groups (n=4 to 5 for each group) using the GLM procedure and Tukey–Kramer *post-hoc* test in SAS (Statistical Analysis Software, SAS/STAT 9.1, SAS Institute Inc., Cary, USA). Differences were considered significant at $p < 0.05$.

iii. Relative bioavailability (RBA) estimates calculation

In order to compare the bioavailability between the soils and the oil-reference, relative bioavailability was calculated as the ratio of the PCB concentration in adipose tissue from soil groups to those from the oil-group (100% reference), adapted from a method previously described (Delannoy *et al.*, 2014 ; Wittsiepe *et al.*, 2007). As adjusted means of concentrations of control animals did not differ from 0 ($p > 0.357$) (see 2.5.2), data was not corrected with these values. In order to assess differences of retention by OM between congener, a multivariate analysis was performed. Statistical analyses were carried out using MIXED procedure SAS (9.1, SAS Institute) on RBA values. Each piglet was considered as an experimental unit. RBA values of each NDL-PCB congener in adipose tissue were analysed using mixed model with treatment group and NDL-PCB congeners as fixed factors and piglets as random one. The model included all treatment groups (n=4 to 5 for each group) and NDL-PCB congeners as effects. A Tukey–Kramer *post-hoc* test was used for comparison of means to detect differences between treatment groups. Differences were considered significant for $p < 0.05$.

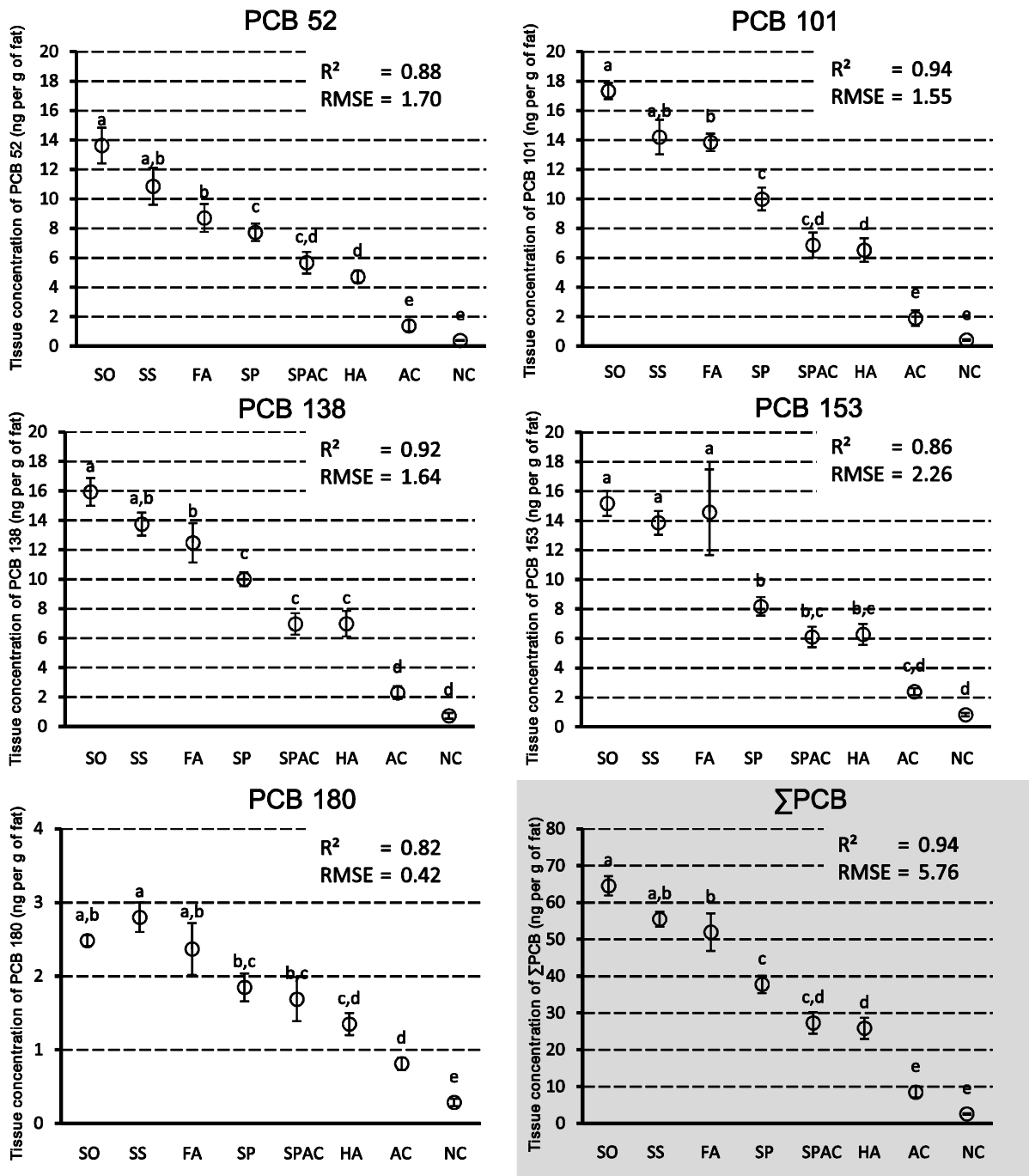


Figure 47 : Concentrations (ng.g⁻¹ of fat) of NDL-PCBs in adipose tissue. Each value represents the adjusted mean \pm standard error

Values are presented following treatment groups : Spiked corn oil (SO, n=5); Standard soil without organic matter (SS, n=4); 1% OC Fulvic acid soil (FA, n=4); 1% OC *Sphagnum* peat soil (SP, n=5); 1% OC *Sphagnum* peat soil; Activated Carbon DARCO® (95:5) (SPAC, n=5); 1% OC Humic acid soil (HA, n=5); 1% Activated carbon DARCO® (AC, n=5); Negative controls (NC, n=5). Letters (a, b, c, d, e, f) indicate values that do not statistically differ from other values within groups presenting a common letter ($P < 0.05$).

4. Results

Daily ingestion of feed was unaffected by treatment during the exposure period ($4.2 \pm 0.3\%$ of $BW \cdot d^{-1}$, mean \pm SD, $P \geq 0.10$). Moreover, no significant effect on daily weight gain ($323 \pm 97 \text{ g} \cdot d^{-1}$, mean \pm SD, $P \geq 0.10$) could be discerned at the end of the exposure period.

a. Effect of OM on NDL-PCBs concentrations in adipose tissue

Models of concentrations in adipose tissue for each congener were fitted with coefficients of determination ranging between 0.82 and 0.94 (*cf* Figure 47). Focusing on the sum of detectable NDL-PCBs, 3 distinct sets of response to treatments were observed (*cf* Figure 47 F) ($n=4$ to 5 , $p < 0.05$). In increasing order of concentration in adipose tissue, the first set comprises animals from NC and AC groups, the second one animals from HA, SP and SPAC groups, and the third one comprises animals from FA, SS and SO groups. All the sets were significantly different one from the other ($p=0.018$ for set 1 and 2; $p < 0.001$ for set 1 and 3; $p=0.001$ for set 2 and 3). The first set exhibited very low concentrations of NDL-PCBs, with animals from the negative control group having the lowest ones ($2.6 \pm 0.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ of fat, mean \pm SE). Animals from the AC group presented slight but non-significant higher levels ($8.5 \pm 1.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ of fat, mean \pm SE; $p=0.731$). The second set comprises groups displaying intermediate levels of NDL-PCBs. Animals in the SPAC group presented lower concentrations than those in HA group and the SP one (respectively 25.8 ± 2.9 ; 27.3 ± 2.9 and $37.7 \pm 2.4 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ of fat, mean \pm SE). HA group was not statistically different from the other ones within this set ($p=0.114$ for SPAC; $p=0.999$ for SP) whereas SP and SPAC groups were significantly different ($p=0.048$). At last, the third set exhibited the highest levels of NDL-PCBs and animals from SO groups exhibited higher concentrations than SS and FA ones (respectively 64.5 ± 2.6 , 55.4 ± 2.0 , $51.9 \pm 5.1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ of fat, mean \pm SE). In addition, SS group were not significantly different from the other one within this set ($p=0.303$ for FA; $p=0.987$ for SO) while SO and FA were significantly different ($p=0.049$). These observations can be roughly generalized to the separate analyses of almost all quantifiable NDL-PCBs congeners (PCB 52, PCB 101, PCB 138 and PCB 153) except for PCB 180. Due to lower exposure levels of PCB 180 compared to the other congeners and lowest concentrations in adipose tissue, higher variations were obtained with less differences between the treatment groups.

b. Impact of OM on RBA estimates

In order to assess differences in retention by OM between the 5 quantifiable NDL-PCBs RBA factors were calculated (5 NDL-PCBs, $n=4$ to 5 , *cf* Tableau 15). In general, RBA estimates from all soil groups were statistically lower than those from SO except for the SS group. In consequence, RBA estimates for SS and FA group are statistically not different from 100%.

Considering results of SP, SPAC and AC groups several assumptions could be realized looking at RBA estimates of the sum of congeners together (*cf* Tableau 15, last column). Firstly, SP phase significantly

	PCB 52		PCB 101		PCB 138		PCB 153		PCB 180		LSMEANS PCB	
Spiked corn oil (SO)	100^a	[88.4 - 112]	100^a	[88.4 - 112]	100^a	[88.4 - 112]	100^a	[88.4 - 112]	100^a	[88.4 - 112]	100^a	[91.6 - 109]
Standard soil (SS)	79.7^{a,b}	[66.6 - 92.7]	82.0^{a,b}	[69.0 - 95.0]	86.3^{a,b}	[73.3 - 99.3]	91.3^a	[78.3 - 104]	113^{a,b}	[99.8 - 126]	90.4^a	[81.0 - 99.9]
Fulvic acid (FA)	63.9^{b,c}	[50.8 - 76.9]	79.9^{a,b}	[66.9 - 92.9]	78.3^{a,b}	[65.3 - 91.3]	96.1^a	[83.0 - 109]	95.5^{a,b,c}	[82.5 - 109]	82.7^a	[73.3 - 92.2]
Sphagnum peat (SP)	56.7^{b,c}	[45.1 - 68.4]	57.7^{b,c}	[46.0 - 69.3]	62.8^{b,c}	[51.1 - 74.4]	53.9^b	[42.3 - 65.5]	74.5^{b,c,d}	[62.9 - 86.2]	61.1^b	[52.7 - 69.6]
Humic Acid (HA)	41.6^{c,d}	[30.0 - 53.2]	39.6^{c,d}	[27.9 - 51.2]	43.7^{c,d}	[32.0 - 55.3]	40.2^{b,c}	[28.5 - 51.8]	68.0^{c,d}	[56.4 - 79.7]	46.6^{b,c}	[38.2 - 55.1]
Sphagum peat and activated carbon (SPAC)	34.6^{c,d,e}	[23.0 - 46.3]	37.6^{c,d}	[26.0 - 49.3]	43.8^{c,d}	[32.2 - 55.5]	41.4^{b,c}	[29.7 - 53.0]	54.4^{d,e}	[42.7 - 66.0]	42.4^c	[33.9 - 50.8]
Activated carbon DARCO® (AC)	9.6^{d,e}	[-3.0 - 22.3]	11.0^{d,e}	[-0.7 - 22.6]	14.3^{d,e}	[2.7 - 26.0]	15.7^{c,d}	[4.1 - 27.4]	32.6^{e,f}	[21.0 - 44.3]	16.7^d	[8.2 - 25.1]
Negative controls (NC)	3.3^e	[-9.4 - 15.9]	2.4^e	[-9.2 - 14.1]	4.5^{de}	[-7.1 - 16.2]	5.4^d	[-6.3 - 17.0]	11.4^f	[-0.3 - 23.0]	5.4^d	[-3.1 - 13.9]
LSMEANS MODEL PCB	48.7^C	[44.5 - 52.9]	51.3^{C,B}	[47.2 - 55.3]	54.2^{C,B}	[50.2 - 58.3]	55.5^B	[51.4 - 59.5]	68.7^A	[64.6 - 72.7]		
Residual	0.010	OM effect :	p<0.001									
RMSE	0.13	PCB effect :	p<0.001									
		PCB*OM :	p=0.050									

Tableau 15: Relative bioavailability (RBA) factors of NDL-PCBs

RBA factors were calculated from adjusted means of concentrations (ng.g⁻¹ of fat). Values in brackets indicates 95% confidence interval (2xSE). SE were calculated *via* propagation of errors formula.

Multivariate analysis was performed using GLM procedure on RBA values 95% confidence interval (2xSE) was calculated.

Organic matter effect: letters (a, b, c, d, e, f) indicate values that do not statistically differ from other values within column presenting a common letter (P<0.05)

NDL-PCBs effect: letters (A, B) indicate values that do not statistically differ from other values within line presenting a common letter (P<0.05)

RMSE: Root means square error.

reduced RBA estimates compared to FA, but less than HA ($p < 0.001$ for both). Secondly, a significant reduction of RBA estimates was achieved from the SP (61.1%, l_{mean}) to the SPAC group (42.4%, l_{mean}) ($p < 0.001$). An even larger reduction of RBA estimates was observed comparing SP (61.1%, l_{mean}) and AC (16.7%, l_{mean}) groups ($p < 0.001$). In addition, RBA estimates from AC group on its own were significantly lower (16.7%, l_{mean}) than the SPAC ones (42.4%, l_{mean}) ($p < 0.001$). At last, all treatment groups were statistically different from the NC group except the AC one ($p = 0.571$). These results lead to consider competition between the two organic phases SP and AC and as the consequence of this, a smaller reduction. Preferential capacities of retention of each congener linked to OM was performed studying the interaction between both effects (OM and NDL-PCB congener) on RBA estimates (Tableau 15). Firstly, all data were used and both the effect of OM quality of the soils and of the NDL-PCB congener were found to be significantly different ($p < 0.001$ for both). Analysing differences between NDL-PCB congeners showed a significant higher RBA estimate for PCB 180 ($p < 0.001$) and those estimates increased along the chlorination degree (*cf* Tableau 15, last line). These result may indicate an increase of deposit for the more chlorinated congeners regardless the OM and is in kept with the particular lipophilic properties of those ones.

5. Discussion

It is known that NDL-PCBs in the intestinal lumen are highly absorbed and that the digestive processes in humans mainly contribute to enhance the absorption of such pollutants. Two main processes are believed to explain the high absorption efficiencies of lipophilic POPs (Kelly *et al.*, 2004). They concern the apparent solubilisation process and the digestive fluxes against the mucosa supported by concentrations gradient (Kelly *et al.*, 2004 ; Schlummer *et al.*, 1998) (*cf* Figure 48). Apparent solubility mainly results from lipidic micelles transportation in the intestinal lumen (Kelly *et al.*, 2004). These both mechanisms also explain that lipophilic compounds could transfer to intestinal cells whereas they must cross successive aqueous phases (intestinal lumen, mucus phase, the unstirred water layer) (Drouillard et Norstrom, 2000 ; Wilson et Ditschky, 1974) (*cf* Figure 48). Thus, properties of PCB as their log Kow does not seem to have an important impact on efficiencies uptake as Humans present particularly high levels of absorption efficiencies of PCBs (Schlummer *et al.*, 1998). In contrast to the digestive processes which do not limit the absorption of organic pollutants, the results of this study clearly demonstrate that OM and its characteristics modulate considerably the bioavailability of NDL-PCBs sequestered in soil.

In the present study we compared the absorption efficiency of a same amount of pollutants brought either in a reference media (oil) or in a tested one (soil with contrasted organic matter characteristics). As the oil is efficiently absorbed by young monogastric (Soares et Lopez-Bote, 2002), as well as human (Schlummer *et al.*, 1998), NDL-PCBs in the reference form are known to be highly bioavailable. Through the relative bioavailability methodology, results are normalised to this reference form to clearly determine if OM sequester efficiently NDL-PCBs along the digestive processes (Bouveret *et al.*, 2013 ; Delannoy *et al.*, 2014 ; Fournier *et al.*, 2012 ; Wittsiepe *et al.*, 2007). In consequence, a possible explanation of

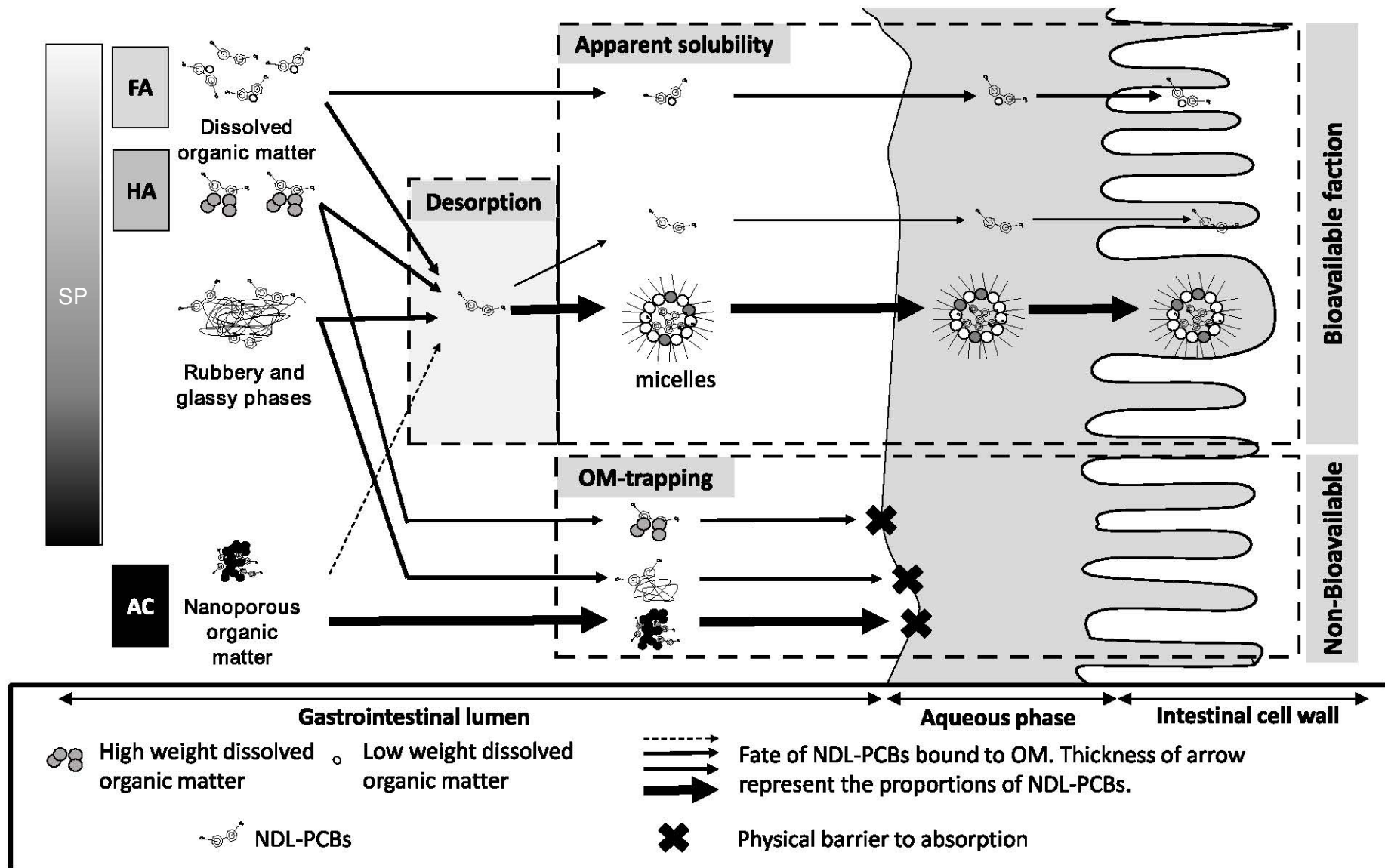


Figure 48 : Mechanistic approach of retention and bioavailability of NDL-PCBs bound to OM

the results is that relative bioavailability for each single NDL-PCBs congener is mainly impacted by extent of desorption of those PCBs bind to OM in the intestinal lumen. This desorption is assumed to be the limiting step, prior to apparent solubilisation.

Sequestration of POPs results from several weak physical interactions between them and OM. Several conceptual models have been set up to illustrate these binding properties of OM, retention of POPs and desorption data in aqueous environment. The next steps of discussion will focus on two distinct model of physical strengths binding POPs to OM as described in the “glassy/rubbery” and also in the “physical trapping” exhibited by nanoporous media. The “glassy/rubbery” model for OM assumes that OM is divided in two different parts. The first one refers as “soft carbon” or “rubbery” supporting a partitioning domain and the second one called “hard carbon” or condensed “glassy” domain which provides a site-specific but extent-limited adsorption (Graber et Borisover, 1998). Xing and Pignatello describe a “fast fraction” of POPs that sorbed rapidly to OM describing the partitioning fraction of POPs to OM, whereas a “slow fraction” is continuously diffusing deeper within the OM, corresponding to a site-specific adsorption (Lesan et Bhandari, 2003 ; Pignatello et Xing, 1996 ; Xing et Pignatello, 1996). Both non-linear behaviour and hysteresis could be related to unequal retention of POPs by both OM phases (Graber et Borisover, 1998 ; Pignatello, 1998 ; Xing et Pignatello, 1996). This hysteresis materializes a recalcitrant fraction of POPs to diffuse and to solubilize, since it is bound to the glassy domain, (Lesan et Bhandari, 2003 ; Xing et Pignatello, 1996). Thus, for standard organic matter used in the present study, the “soft carbon” part should be predominant for FA, HA. In contrast, SP should have a more important “glassy” phase than FA and HA. One other possible effect of retention of POPs by soluble OM is that a transportation could occur. FA could also be absorbable and have a consistent impact on bioavailability of molecules (Mirza *et al.*, 2011 ; Sutton et Sposito, 2005). However it is assumed that their physical properties as their chemical functions or their length could be limiting factors. In the present study FA exhibits a low molecular weight (3 kDa to 16 kDa) (Yan *et al.*, 2012) (*cf* Figure 48). This element is also in accordance with the high bioavailability for the FA group in this study. In contrast, AC is known to strongly bind POPs, and this strong retention should be highlighted. Indeed, an even more efficient sequestration was secondarily described to take into account a nanoporous “physical trapping” of OC offered by solid particulate of condensed OM (Pignatello, 1998). In the present study, OM showed different K_{oc} ranging from 2.3 to 2.9 (respectively chosen FA and HA) whereas SP exhibited intermediate but more variable K_{oc} (Niederer *et al.*, 2007). AC is known to tightly bound POPs and partitioning coefficient are fairly greater (above 6) (Gomez-Eyles *et al.*, 2013). RBAs found in this study (oil \geq fulvic acid $>$ *Sphagnum* peat \geq *Sphagnum* peat and activated carbon \geq Humic acid \gg activated carbon) are in line with these K_{oc} values.

It also appeared that SPAC did not show low RBA levels as that found with AC. Studies dealing with competition between carbonaceous geosorbent and organic matter emphasize that nanopores of those condensed particles could be filled by adsorbed humic material. This adsorption leads for example to a lesser extent of PCB sorption (Sharma *et al.*, 2009) and could explain this specific result. In addition, PCB 180 is

less retained by OM than the other NDL-PCBs. This observation appears controversial in regard to previous data published. Indeed Koc is known to increase along the Kow ; and as the highly chlorinated congeners are the most lipophilic ones this contradict the present result (Chiou *et al.*, 1987). As the sequestration of OCs in OM is a time-dependent process, the aging process could not be sufficient to allow correct integration of the highest congener. This aging procedure 1/ was designed to be easily reproducible 2/ to be sufficient to obtained a large differences of RBA responses.

6. Conclusion

Humic substances impact differently the retention of PCBs during the digestive process in piglets. Indeed, a wide range of RBAs was achieved between all the prepared artificial soils. While AC (0.05%) strongly reduces bioavailability, competition with SP shows an important decrease of the retention. Commercial HA also appears to be an efficient media of retention. These elements are of great interest for further investigations in terms of risk assessment in contaminated areas in the context of involuntary soil ingestion by toddlers.

Acknowledgments

The authors are grateful to the French Ministry for Agriculture and Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) for their financial support. They thank S. Denys (ANSES) for scientific comments, S. Poinsignon (URAFPA), C. Grandclaudon (URAFPA), S. Lerch (URAFPA) and C. Soligot (URAFPA) for NDL-PCBs analyses. In addition the authors thank also P. Hartmeyer (URAFPA) and H. Toussaint (URAFPA) for providing care to piglets.

6

Impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité relative

Introduction

Dans la continuité du travail mené sur sol artificiel, il était important de caractériser également l'impact de sols historiquement contaminés sur la biodisponibilité des PCB-NDL. Des sols ont été collectés sur des sites connus pour leur historique de contamination (*cf ci-dessus*, Sites d'études, Prélèvements et Caractérisation des sols). Une caractérisation simple des sols (caractérisation usuelle) a permis de sélectionner un panel approprié de sols pour cette étude (*cf précédemment*).

Au regard de la synthèse bibliographique et des données obtenues lors des deux premiers articles, deux phases du sol sont particulièrement importantes à prendre en compte : la phase minérale et la matière organique du sol. Pour la première phase, l'argile apparaît importante à prendre en compte du fait que pour certains pesticides elle est une phase de sorption importante. Pour la deuxième, il apparaît que la qualité tout comme la quantité de matière organique détermine la sorption des contaminants organique. Les deux premiers articles soulignent son impact majeur sur la biodisponibilité relative mettant en évidence une possible rétention des PCB lors des processus digestifs.

Ainsi, il a été choisi d'utiliser des paramètres descriptifs de ces phases : la teneur en argile, d'une part, la teneur en carbone organique et en *black carbon* d'autre part. Des caractéristiques pouvant également impacter la sorption ont été rajoutés comme les concentrations en PCB et le pH du sol.

L'objectif a été de déterminer l'importance relative de ces paramètres pour expliquer la biodisponibilité relative des PCB.

Cette partie est basée sur une publication intitulée «*Impact of soil characteristics on relative bioavailability of NDL-PCBs in piglets*», soumis à la revue *Journal of Hazardous Materials* en février 2015. L'article présente, ainsi, un essai expérimental réalisé sur porcelets. Le tissu cible du calcul de la biodisponibilité est le tissu adipeux péri-caudal.

Delannoy, M., Fournier, A., Tankari Dan-Badjo, A., Schwarz, J., Lerch, S., Rychen, G. and Feidt, C. 2014. Impact of soil characteristics on relative bioavailability of NDL-PCBs in piglets. *J. Haz. Mat.*, *soumis*.

ARTICLE 3:

IMPACT OF SOIL CHARACTERISTICS ON RELATIVE BIOAVAILABILITY OF NDL-PCBS IN PIGLETS

Matthieu Delannoy¹, Agnès Fournier¹, Abdourahamane Tankari Dan-Badjo², Jessica Schwarz¹, Sylvain Lerch¹, Guido Rychen¹, Cyril Feidt¹.

1: Université de Lorraine, INRA USC 340, UR AFPA, 2 avenue de la Forêt de Haye TSA 40602, 54 518 Vandœuvre-lès-Nancy, France

2: Université Abdou Moumouni de Niamey, Département Sciences du sol, Faculté d'agronomie, BP 10960 Niamey, République du Niger

1. Abstract

Children may be orally exposed to organic pollutants through involuntary soil ingestion. This study was aimed at determining the impact of the characteristics (organic carbon (OC), black carbon (BC), clay contents and pH) of ten contaminated soils on the bioavailability of non-dioxin-like polychlorobiphenyls (NDL-PCBs). Five juvenile male piglets were exposed to increasing amounts of each of the soils. These soil-fed groups were compared by a relative bioavailability approach (RBA) to a reference group fed-- with corn oil spiked with increasing doses of Aroclor 1254. After 10 days of oral exposure, the animals were slaughtered and NDL-PCB concentrations were determined by GC-MS in the adipose tissue. The relative bioavailability (RBA) factors were calculated for PCB 101, 138, 153 and 180. Despite high variations in the amount of black carbon (0.05%-0.60% d.w.) and organic matter (1.2%-18% d.w.), only 3 soils exhibited a significantly lower RBA for all NDL-PCBs, compared to the oil-group. High levels of OC (>10%) and BC content (0.3%) were related to a significant reduction in RBA. Overall, RBA was higher than 45% whatever the soil and the PCB congener.

2. Introduction

As children may exhibit hand-to-mouth activities, incidental ingestion of contaminated soils is a growing concern. In risk assessment U.S. EPA recommends to use an individual ingestion rate of 200 mg per day (U.S. EPA, 2011). Persistent organic pollutants (POPs) like non-dioxin-like-polychlorobiphenyls (NDL-PCBs) are almost ubiquitous in the environment (Meijer *et al.*, 2003). Soil appears as a principal sink for those pollutants. Furthermore, several studies have linked exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) to neuropsychological impairments like a possible deficit of memory (Elnar *et al.*, 2012 ; Faroon *et al.*, 2000 ; Grandjean et Landrigan, 2006). Thus, assessing exposure to NDL-PCBs from contaminated soils appears as

Soil-samples

Soil sample	Site-name	Location in France	Historic	Age of contamination	Amount of soil fed (mg DW of soil per 10Kg of BW, n=1)				
					D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅
A1	S ^t Cyprien ^a	Saint-Cyprien, Loire (42 160)	Historical fluid leak from transformer distributed around by a recent fire.	2008 date of fire event ^c	700	1 033	1 366	1 700	2 033
A2					15	30	45	60	75
B1	Korsec ^a	Basse-Ham, Moselle, (57 970)	Buried industrial waste from a former mechanical workshop. Fluid leaked from transformer.	before 2000 ^c	50	125	200	275	350
B2					40	80	120	160	200
B3					50	110	170	230	290
C	Lyon ^b	NK	NK	NK	50	110	170	230	290
D	Ploufragan ^a	Ploufragan, Côtes-d'Armor (22 440)	Heavy oil processing facility.	before 1993 ^c	700	1 033	1 366	1 700	2 033
E1	Reverdy ^a	Cognière, Haute-Saône (70 230)	Fluid leaked from transformer. Former agro-food facility.	before 1998 ^c	50	112.5	175	232.5	300
E2					100	200	300	400	500

Reference-soil

Soil sample	Site-name	Description	Age of contamination	Amount of soil fed (mg DW of soil per 10Kg of BW, n=1)							
				1xD	2xD	3xD	4xD	5xD	6xD	8xD	10xD
R	NK	BCR 481 (Community Bureau of Reference) supply from Sigma-Aldrich (Saint-Louis, USA). Former German industrial site.	NK	17.5	30	42.5 ^d	55	67.5	80	105	130

Reference-oil

Sample	Description	Concentration of spiked corn oil (µg of Aroclor 1 254 per g of corn oil). Number into bracket correspond to the number of repetitions.						
		1xD	3xD	5xD	7xD	10.5xD	14xD	21xD
Oil	Each piglet were fed 2g of spiked cor oil per 10Kg. Concentration in Aroclor 1 254 differ along the doses.	3.0 (n=2)	9.0 (n=2)	15 (n=2)	21 (n=2)	25.5 (n=2)	42 (n=3)	63 (n=3)

Tableau 16 : Formulation, description and contamination doses of exposure matrices in experimental dough balls

^a: Site-name as provided in BASOL database (MEDDE, [s.d.])

^b: Location of waste-treatment company which provided this soil.

^c: According to BASOL database (MEDDE, [s.d.])

^d: Dose suppressed of the data set.

NK : Not known.

an important issue in terms of safety management.

In vivo assessment of oral-exposure to NDL-PCB contaminated soils by young children requires the choice and use of an adequate animal model to mimic their digestive process. Numerous exposure assessment studies on POPs were performed in rodents (Fouchécourt *et al.*, 1998 ; Fries *et al.*, 1989), even in the specific field of contaminated soil exposure (Pu *et al.*, 2006). This species show some limitations to allow extrapolations to children. Among them no guidelines exist for the use of this animal species to study soil-exposure. The rather high ratio soil ingestion over body weight (BW) of rodents could also be a concern. In addition, differences in efficiencies of absorption between species were reported (Budinsky *et al.*, 2008 ; Kelly *et al.*, 2004). These limitations highlight the need to perform further exposure investigation using a more adequate species. Juvenile swine appears to be a valuable model in response to these concerns. Indeed, since piglets are very close in terms of growth and absorptive mechanisms to humans, this animal species is increasingly used to evaluate study oral exposure to soil pollutants in soil (Budinsky *et al.*, 2008 ; Casteel *et al.*, 2006 ; U.S. EPA, 2007d).

Since soil constituents, biological and physic-chemical processes as well as the contaminants characteristics are known to impact the bioavailability of contaminants in the intestinal lumen (Delannoy *et al.*, 2014 ; Pignatello, 1999 ; Pu *et al.*, 2006 ; Saghir *et al.*, 2007), the uptake and the absorption of sequestered organic compounds appear to be a complex phenomenon. Some studies based on artificial soils reported the major role of the soil-constituents on the bioavailability of NDL-PCBs during digestion (Delannoy *et al.*, 2014 ; Pu *et al.*, 2006). However, few *in vivo* assays described the impact of the characteristics of natural, old-contaminated soils on bioavailability.

The present study was aimed to assess the retention of NDL-PCBs by soil throughout the digestive processes depending on the physical characteristics of organic matter (OM). More precisely, in order to further investigate the importance of OM, it was designed to assess relative bioavailability of NDL-PCBs in soils sampled in 5 different areas known for their industrial contamination with NDL-PCBs. Common soil characteristics were used as descriptors of those soils in order to distinguish their relative importance on bioavailability of NDL-PCBs in piglets.

3. Materials and methods

a. Preparation of exposure matrices

i. Spiking technique of oil

Spiked oil with NDL-PCBs (SO) was prepared as a reference matrix using corn oil (Sigma Aldrich, St Louis, USA). All the seven doses were prepared with increasing amounts of Aroclor 1254 in hexane (Sigma Aldrich, Supelco) per g of corn oil (Tableau 16). Resulting concentrations corresponded to multiplications of a reference dose (1D corresponding 3 000 ng of Aroclor 1254 per g of oil corresponding to 1 000 ng of

Study design

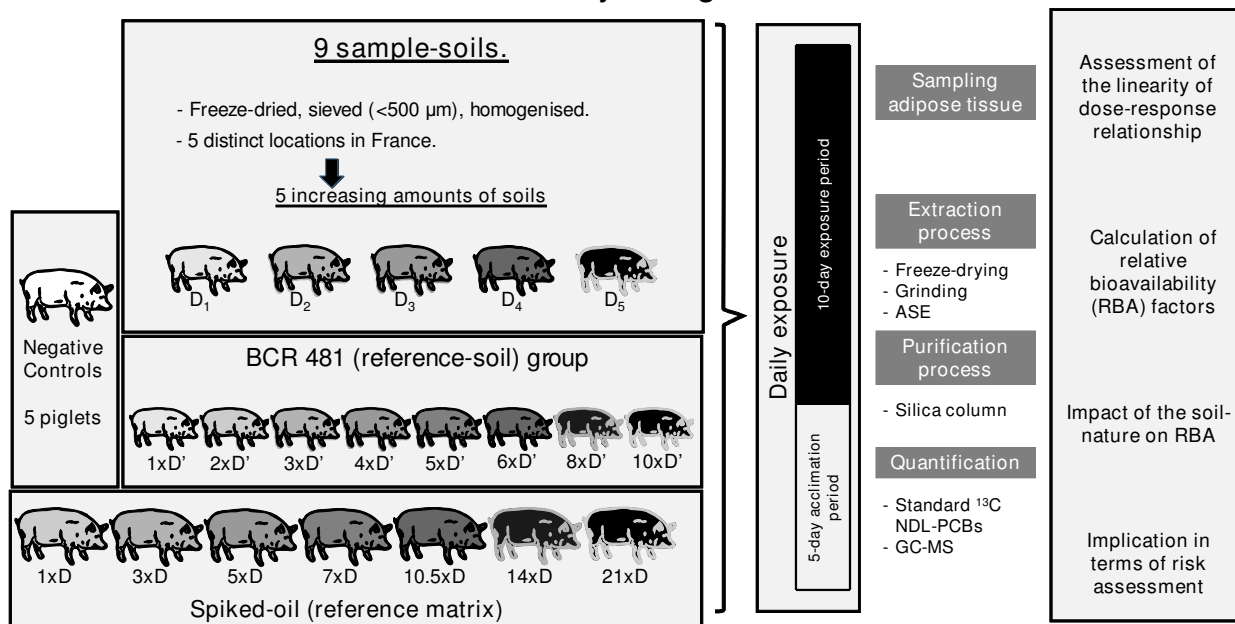


Figure 49 : Experimental design of the present study

Amounts of soil (

Amounts of BCR 481 were set to correspond to those of oil and test if the dose-response relationship is quadratic. Unitary dose (

Amounts of oil were set to determine if dose-response relationship is quadratic. Piglet were given 2g of spiked oil for 10 kg of BW. Unitary dose (\mu\text{g} of Aroclor 1254 per g of corn oil.

NDL-PCBs per g of oil). In brief, one hexane solution of NDL-PCBs was prepared and appropriate amount of it was sprayed over corn oil (Sigma-Aldrich, St Louis, USA) in order to obtain the seven doses. The resulting seven doses are the following: 1D, 3D, 5D, 7D, 10.5D, 14D, 21D ranging from 3 000 ng to 63 000 ng of Aroclor 1254 per g of spiked oil. After spiking, solvent traces were rotary-evaporated (Rotavapor® RE121, Büchi, Flawil, Switzerland) during 2 hours at 0.1 mbar and samples were let under an extractor hood overnight. All oil preparations were then stored at 4°C in amber glass vials until further use.

ii. Sampling of soils

BCR 481 (Community Bureau of Reference) supplied from Sigma-Aldrich (BCR 481, Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA) was used as a reference soil. Moreover, nine soils were sampled during a collection campaign which took place in France in 2013. Sampling were realized from Mars to September 2013 and was realized in five distinct location areas inventoried as contaminated in BASOL and BASIAS soil (BRGM, [s.d.] ; MEDDE, [s.d.]). All soils were sampled from the first 5 cm of the soil surface, in adequacy with those which may be ingested by mouthing activities. During sampling, the largest vegetative debris and litters were removed. Each soil sample were constituted from a mix of three collection points spaced out by more than 1m and collected in aluminium containers. As contaminations were reported as high, samples were freeze-dried until stabilization of mass instead of air dried in order to limit volatilization of NDL-PCBs and possible cross-contamination. Then samples were sieved to 500 µm, homogenised by 5 splits in a close-bin riffle splitter and subsampled to aliquots of 200 g prior to experimental use. At last, the tenth soil-sample was BCR 481.

b. Experimental design

The experimental design to assess the relative bioavailability (RBA) of NDL-PCBs (i.e. 28, 52, 101, 128 and 153) in 10 sampled soils is shown in Figure 49. Eleven groups of piglets were fed either one of the 9 sampled-soils, the reference soil or NDL-PCBs spiked corn oil. RBA was estimated using concentrations of NDL-PCBs in adipose tissue of soil-fed and corn oil-fed groups (Delannoy *et al.*, 2014 ; Fournier *et al.*, 2012). For each group, one or two additional piglets were fed a non-contaminated standard soil as a negative control. Piglets were randomly allocated to each treatment group. Animals were sacrificed at the end of the contamination period (day 10).

c. Exposure of piglets to soil and oil: hand-feeding procedure, dosing and repetitions

Moistened dough balls were prepared as exposure vehicle using the usual feed of piglets (Porcelet Super VE 25 kg, Lorial, Laxou, France) and water (1:1, wt/wt). Four dough balls originating from one subsampling of wet pellets (28±2g) were used daily for each piglet either in acclimatation or exposure periods. During acclimatation a non-contaminated artificial wet soil (17.5% of mass) containing kaoline (Kaolinite, Sigma-Aldrich, Saint-Louis) and silica (Fontainebleau sand, VWR) (78:22, wt/wt, dry matter basis) were administered to piglets. Increasing amounts of this soil were distributed, over the 5 d of the pre-experimental period, in order to gently acclimate piglets to a limited-extent ingestion of soil (less than 0.1% of the individual

daily intake). During exposure period, dough balls (day 1 to day 10) piglets were administered daily a moistened dough ball with the corresponding amount or dose of either spiked oil or one of the soil-samples at 8:00 am (Tableau 16) according to their treatment group. Soil or oil intake (g of dry matter) for each piglet was calculated on the basis of their individual body weight and their assigned dose. In short, every two days, individual body weight of piglets were measured. Minimum and maximum amount per 10 kg of BW for each soil was calculated to set the ranges of exposure doses for PCB 101, PCB 138 and PCB 153 inside those tested with the spiked oil. Delivered amounts of soil matrix are presented in Tableau 16. Two g of spiked oil per 10 kg of piglet BW were introduced for all seven doses of oil-fed group. In order to limit possible transfers of NDL-PCBs from soil to the feed matrix, soils were introduced in the center of the dough ball. Each of the nine soil-sample groups comprised five increasing amounts of ingested soil whereas the oil-fed group included seven increasing doses (Tableau 16). The reference (R) group was exposed to BCR 481 and comprised 8 doses and piglets (Tableau 16). Actually, the five lowest doses (1D, 3D, 5D, 7D, 10.5D) were provided to 2 piglets whereas the two highest ones (14D, 21D) were delivered to 3 piglets. Spacing between doses of Aroclor 1254 and number of piglets were chosen in order to accurately check the linearity of dose-response relationship. Maximum amount of soil-ingestion was rather low whatever the soil and dose (maximum of 203 mg kg⁻¹ d⁻¹). This ingestion amount is lower or of the same order of those used in previous relative bioavailability assay of organic (Bouveret *et al.*, 2013 ; Budinsky *et al.*, 2008) and inorganic contaminants in soil (Denys *et al.*, 2012) using piglets. At the end of the 10 d of exposure period piglets were subjected to electronarcosis followed by immediate exsanguination after a 12 h-starvation period. Then, pericaudal adipose tissue were collected.

d. Animals, ethics and housing

In total, 74 Crossbred (Pietrain x Youna[®], EARL des deux chênes, Saint-Maurice-aux-Forges, France) castrated male swine (BW), weaned, of 35±3 days of age were used. A 5-day acclimation period was realized prior to the start of the contamination. In short, animals were housed individually using stainless-steel cages in the animal facility of URAFPA (Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy, France). Temperature was kept to 26-27°C. Every 2 days, BW of piglets was checked. Feed was provided daily at 4.5% of BW at 10:00 am. *Ad libitum* access to water was provided throughout the entire study. This study was carried out in strict accordance with the recommendations in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the French Ministry of Agriculture for Animal Research (MAAR) and European Council Directive (European directive 2010/63/EU). Furthermore, the protocol was approved by the Ethical Committee of Lorraine (Permit Number: 00344.01, from MAAR).

e. Analyses of exposure matrices

Three aliquots of each nine soils and the 7D oil samples were sent to an external laboratory for NDL-PCBs analyses (CARSO – LSEHL, Lyon, France). NDL-PCBs were quantified by GC-MS analysis after an Accelerated Solvent Extraction (ASE) adapted from NF EN 16 167. Moreover prepared samples were sent in

duplicate to INRA US10 LAS (Laboratoire d'Analyses des Sols d'Arras, Arras, France) to characterize soil-samples in terms of physical properties (5 fractions size grading, NF X 31-107), pH (using KCl 0.1 N according to NF ISO 10 390), organic carbon content (following decarbonation, NF ISO 10 694) and black carbon content was measured using chemo-thermal oxidation methodology, as described previously (Caria *et al.*, 2011).

f. Analysis of biological samples

Pericaudal adipose tissue was collected. All analytical steps for preparation of adipose tissue samples (freeze-drying, grinding) and chemical analyses are described in details elsewhere (Delannoy *et al.*, 2014). In brief, these analyses involved three successive steps (Figure 49). ASE from freeze-dried and milled samples of adipose tissue was first performed (toluene/Acetone, 70:30 vol/vol; 120°C, ASE 350, Dionex, Sunnyvale, USA) using ¹³C-labelled NDL-PCBs from LGC Standard (Molsheim, France) as internal standards. Finally quantification was achieved by using a GC-MS device (7 890A, Agilent Technologies, Santa Clara, USA). All chemicals used in this study were pesticide residue analytical grade.

g. Data analyses

i. Quality control of the data set and data treatment

Concentrations in soil were expressed in µg per g of dry soil and those in adipose tissue in ng per g of fat. Externally analysed soil-samples were re-identified to allow randomized, operator-blind analyses. All parameters measured were realized according to COFRAC quality standard criteria, except black carbon because of the lack of standardisation of this methodology. For adipose tissue, regardless the treatment group, PCB 28 levels were below the limit of quantification. PCB 52 exhibited mostly quantifiable but low levels leading to highly variable results. Thus, presented results are focused on the most abundant congeners: PCB 101, PCB 138, PCB 153 and PCB 180. PCB-NDLs concentrations observed from one piglet (R, 1.5D) were removed from the data set because of unexpected low levels of NDL-PCBs.

ii. Relative bioavailability (RBA) estimates calculation

Statistical analyses were adapted from a methodology previously described (Littell *et al.*, 1997). In short, one-way analysis of covariance using general linear model procedure of statistical analysis software SAS/STAT (SAS v9.1, SAS Institute, Cary, USA) was performed. The statistical process is performing a step-by-step checking of three assumptions: 1/assessing if dose-response relationship is whether linear or quadratic whatever the exposure matrix, 2/if intercepts are equal whatever the exposure media and 3/if negative controls are not different from the common intercept. At last, slope-ratio methodology was employed as the linear model of dose-response relationship efficiently model experimental data.

NDL-PCBs	12.2	146	60.9	73.9	64.2	28.1	32.7	82.9	24.1
($\mu\text{g g}^{-1}$)	± 1.1	± 2.7	± 6.5	± 14.7	± 9.5	± 3.4	± 3.1	± 7.5	± 0.8

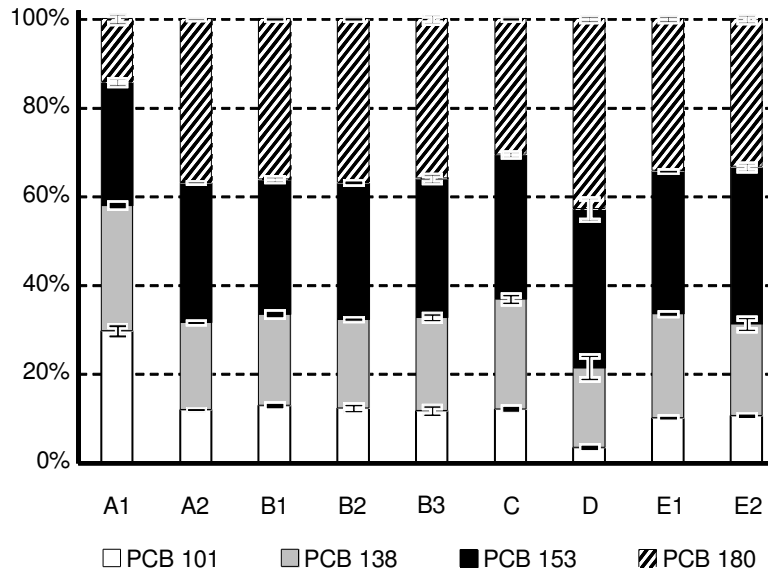


Figure 50 : Profile of NDL-PCBs congener (PCB 101, 138, 153 and 180) and total NDL-PCBs concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$ dry matter) in 9 contaminated soils collected in 5 different locations in France

Details on soils origins and physic-chemical characteristics are provided in Table 1.

Histograms represent the mass distribution of each congener in the total concentrations of these 4 NDL-PCBs congener.

Concentrations in adipose tissue of PCB 101, PCB 138, PCB 153 and PCB 180 were normalised by dividing them by the maximum daily dose given for one treatment (soil or oil). Then, relative bioavailability estimates and 95% fiducial limits were calculated as previously described (Denys *et al.*, 2012 ; Littell *et al.*, 1997). Relative bioavailability was calculated as the ratio of the PCB concentration in adipose tissue of each soil groups to those from the oil-group (100% reference). Differences were considered significant for $p < 0.05$.

iii. Principal component analysis (PCA)

To determine the relation between physico-chemical parameters of soils and RBA, a principal component analysis (PCA) has been performed using the statistical software SPAD (SPAD 7.0, Coheris SPAD, France). During this data analysis Pearson correlation coefficient were retrieved. RBA obtained for PCB 153, organic carbon content (OC), black carbon content (BC), clay content, pH and NDL-PCB concentrations (mean of sum of PCB 101, 138, 153 and 180 concentrations) were used as principal variables. RBA for the other congeners (i.e. PCB 101, 138 and 180) were set as illustrative variable. Each sampled soils take part of the analysis.

4. Results and discussion

a. Experimental matrices

The 9 sampled soils and R covered a consistently high range of OC as well as BC levels. OC content ranged from $12.1 \pm 0.4 \text{ g kg}^{-1}$ to $180.5 \pm 2.5 \text{ g kg}^{-1}$ (mean \pm SD) whereas BC ranged from $1.1 \pm 0.4 \text{ g kg}^{-1}$ to $6.2 \pm 0.2 \text{ g kg}^{-1}$ (mean \pm SD). Levels of BC are in line with previous data showing levels ranging from 0.2 to 14.2 g kg^{-1} for 300 tested soils (Caria *et al.*, 2011).

Concentrations of total soil NDL-PCBs in the present study ranged from $12.2 \pm 1.1 \mu\text{g g}^{-1}$ to $146.5 \pm 2.7 \mu\text{g g}^{-1}$ and largely exceeded ubiquitous levels of NDL-PCBs present in the environment (Meijer *et al.*, 2003) (19.5 ng g^{-1} of soil DM) (Figure 50). However, the observed levels are similar to those found in industrially contaminated sites in France and are of the same order of magnitude than those used in bioavailability assays (Fouchécourt *et al.*, 1998 ; Fries *et al.*, 1989 ; Pu *et al.*, 2006).

Seven soils (A2, B1, B2, B3, C, E1 and E2) exhibited a rather similar congener profile characterized by $11.7 \pm 1.0\%$ PCB 101, $21.5 \pm 1.9\%$ PCB 138, $32.0 \pm 1.6\%$ PCB 153 and $34.8 \pm 2.2\%$ PCB 180 (mean \pm SD), except A1 and D samples. The D sample displayed a higher chlorinated congener profile : $3.5 \pm 0.4\%$ PCB 101, $18.0 \pm 2.6\%$ PCB 138, $35.6 \pm 2.5\%$ PCB 153 and $42.9 \pm 0.4\%$ PCB 180 (mean \pm SD). In contrast, the A1 sample had a less chlorinated congener profile with $29.7 \pm 1.2\%$ PCB 101, $28.4 \pm 0.5\%$ PCB 138, $27.7 \pm 0.6\%$ PCB 153 and $14.2 \pm 0.9\%$ PCB 180 (mean \pm SD) (Figure 50). Since highly chlorinated congeners are more stable in the environment than less chlorinated and more volatile ones, they are more susceptible to be retained by soil. In addition, the similarity of profile also highlights that each soil has been contaminated by a similar

Assessment of dose-response relationship

	<i>p-value of model terms</i>			<i>Statistics of the model</i>	
	Quadratic	common intercept	X ₀	RMSE	RSD
PCB 101	0.31	0.97	0.87	0.0024	0.94
PCB 138	0.48	0.88	0.60	0.0042	0.97
PCB 153	0.35	0.93	0.28	0.0041	0.96
PCB 180	0.29	0.92	0.16	0.0030	0.96

Linear parameters of dose-response relationship

Slope of the model

	A1	A2	B1	B2	B3	C	D	E1	E2	R
PCB 101	0.034*	0.019***	0.029***	0.034**	0.023***	0.051**	0.030***	0.034**	0.044 ^{NS}	0,033**
PCB 138	0.064 ^{p=0.09}	0.048***	0.076 ^{p=0.08}	0.060**	0.045***	0.069 ^{NS}	0.035***	0.060**	0.079**	0,046***
PCB 153	0.055 ^{NS}	0.035***	0.061 ^{NS}	0.056 ^{NS}	0.046***	0.063 ^{NS}	0.030***	0.060 ^{NS}	0.062 ^{NS}	0,044***
PCB 180	0.034**	0.032***	0.043 ^{NS}	0.036 ^{p=0.06}	0.027***	0.044 ^{NS}	0.021***	0.041 ^{NS}	0.040 ^{NS}	0,039 ^{NS}

Intercept of the model

PCB 101	0.0025±0.0010
PCB 138	0.0020±0.0013
PCB 153	0.0028±0.0018
PCB 180	0.0016±0.0009

Relative bioavailability estimates and 95% fiducial limits

Adipose Tissue

	A1	A2	B1	B2	B3	C	D	E1	E2	R	
PCB 101	RBA estimates	82.6%	45.6%	68.6%	81.5%	56.4%	123%	71.2%	81.3%	106%	80.0%
	95% fiducial limits	[64.3 - 101]	[30.1 - 61.1]	[51.6 - 85.6]	[63.8 - 99.1]	[40.2 - 72.6]	[102 - 143]	[54.2 - 88.2]	[63.5 - 99.1]	[85.8 - 126]	[63.0 - 97.0]
PCB 138	RBA estimates	91.7%	68.4%	109%	86.3%	64.4%	98.3%	50.9%	86.5%	114%	75.3%
	95% fiducial limits	[78.5 - 105]	[56.2 - 80.5]	[94.6 - 123]	[73.3 - 99.2]	[52.4 - 76.4]	[84.7 - 112]	[39.5 - 62.3]	[73.5 - 99.6]	[98.9 - 128]	[63.7 - 86.9]
PCB 153	RBA estimates	93.7%	59.7%	104%	95.4%	78.2%	108%	50.6%	103%	105%	75.1%
	95% fiducial limits	[78.7 - 109]	[46.4 - 73.1]	[88.0 - 120]	[80.2 - 111]	[63.8 - 92.5]	[92.3 - 124]	[37.7 - 63.5]	[87.1 - 118]	[88.7 - 121]	[61.5 - 88.8]
PCB 180	RBA estimates	83.1%	78.7%	107%	88.6%	67.0%	110%	51.4%	101%	100%	97.2%
	95% fiducial limits	[67.0 - 99.2]	[62.9 - 94.6]	[89.0 - 124]	[72.2 - 105]	[51.7 - 82.2]	[91.8 - 128]	[37.1 - 65.8]	[84.1 - 119]	[82.3 - 118]	[80.8 - 114]

Tableau 17 : Assessment of dose-response relationship, linear parameters and relative bioavailability (RBA) factors

Parameters of the linear response of normalised NDL-PCBs concentration in adipose tissue to the amount of normalised ingested indicator PCBs originating from contaminated soils or from contaminated oil.

source (mostly dielectrical fluid from transformers) and relatively old contamination events were reported (Tableau 16).

b. Growing performances of piglets

No effect of the exposure doses was observed on piglets performance whatever the soil and amount of soil ingestion. Measured BW, daily BW gain and weight of liver were unaffected by both the treatment group and the amount of ingested soil ($p>0.10$, data not shown). Over the 10d-exposure period, initial BW was 10.6 ± 1.22 kg and final one 13.5 ± 1.56 kg (mean \pm SD). Average daily BW gain was 0.33 ± 0.09 kg (mean \pm SD). These results also indicate that the daily oral administration of soil does not impair the development of the animals. Indeed, Fries *et al.* (1982) (Fries *et al.*, 1982) demonstrated that outdoor reared piglets may ingest up to 5.7 % soil of the total daily diet.

c. Linearity check of the dose-response relationship

The three necessary assumptions to assess an adequate dose-response relationships were checked (Littell *et al.*, 1997) (Tableau 17): 1/ For each experimental matrix, the response was not quadratic (Ingested PCB x Ingested PCB (matrix) interaction, $p>0.07$). 2/ The intercepts adjusted for the treatment groups were not different from each other ($p>0.87$) leading to consider that, even at low exposure doses, the model describes efficiently the experimental data. 3/ The common intercept did not differ from levels found in control piglets ($p>0.25$). Thus, dose-response curves fitted a linear pattern for all exposed groups (Ingested PCB (matrix), $p<0.001$). These elements are in accordance with previous data concerning POPs at relatively low exposure doses whatever the animal species used: piglets (Bouveret *et al.*, 2013), laying hens (Fournier *et al.*, 2012), juvenile carps (Gaillard *et al.*, 2014) and lactating goats (Feidt *et al.*, 2013). In addition, at low exposure levels, it appears that absorption, metabolic and elimination rates are linearly correlated to the ingested dose of PCBs (ATSDR, 2000). Thus, R^2 were calculated and the lowest value was 0.93 ($p<0.05$). As linearity is assessed RBA could be calculated (Budinsky *et al.*, 2008 ; Fournier *et al.*, 2012 ; Littell *et al.*, 1997).

d. Impact of soils on RBA

RBA estimates were above 45% (PCB101, A2, Tableau 17). Seven soils out of 10 showed a significant reduction of bioavailability for PCB 101 (A2, B1, B2, B3, D, E1 and R; $P<0.05$), only 5 of them presented also a significant reduction of bioavailability for PCB 138 (A2, B2, B3, DE1 and R; $P<0.05$) and respectively 4 and 3 of them for PCB 153 and 180 (A2, B3, D and R; $P<0.05$). Moreover, this significant bioavailability reduction appeared weak for 2 soils (B2 and E1) with RBA higher than 80%. In the literature, similar levels of bioavailability for PCBs in agricultural soils were reported. Fries and co-workers found RBA ranging from 82.4% to 84.1% for 2 congeners of PCB from spiked soil in rat (according to ratio of bioavailability in soil to those of corn oil) (Fries *et al.*, 1989). One other study reported no reduction of relative bioavailability in comparison to oil (Pu *et al.*, 2006). Overall, these findings are also in accordance with previous

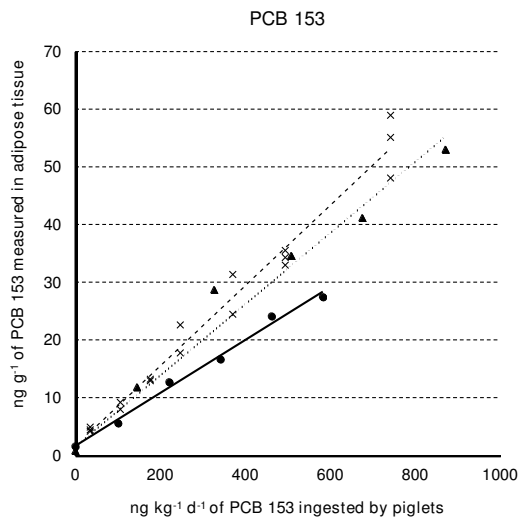


Figure 51 : Example of dose-responses of PCB 153 in adipose tissue of piglet receiving increasing amounts of ND-L-PCBs spiked oil (oil-group), or contaminated and (A2 and E1-sample groups)
 Concentrations of PCB 153 (ng g^{-1} of fat) are plotted against the exposure dose in PCB 153 (ng kg^{-1} of BW). Each point represents one piglet ($n=6$ for soil-sample groups, $n=16$ for oil-group). Each piglet from oil-group are presented by crosses (\times), from E1 by full triangles (\blacktriangle), from A2 group by full circles (\bullet). Linear models for these three groups are presented respectively by: dashed line, punctuated line and full line, for oil, E1 and A2 groups, respectively. Parameters of linear models are provided in Tableau 17.

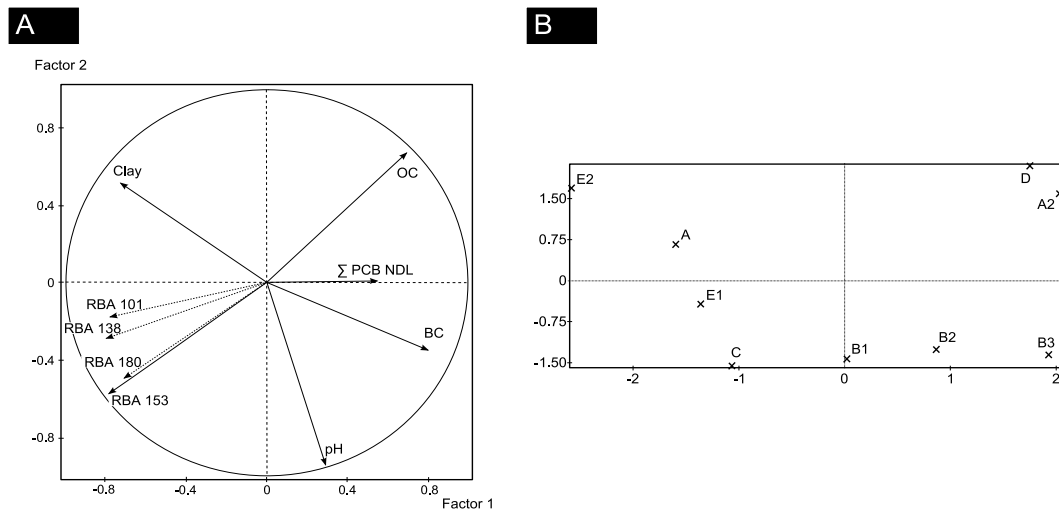


Figure 52 : Principal component analysis between RBA and each soil-characteristic
 Figure illustrates correlations between soil-characteristic (pH, clay and OC content, concentration of the four studied ND-L-PCBs (101, 138, 153 and 153; Σ PCB ND-L) and RBA estimates. PCB 153 was set as reference (RBA 153). PCB 101, 138 and 180 were added as illustrating variables (respectively RBA 101, RBA 138 and RBA 180). Figure A represent the space of variables whereas the figure A represent the space of the individuals.

data obtained in piglets using artificial soils (Delannoy *et al.*, 2014). Furthermore, they are in line with previous data from other vertebrate species like laying hens (Fournier *et al.*, 2012), lactating goats (Feidt *et al.*, 2013) and juvenile carps (Gaillard *et al.*, 2014).

e. Factors affecting the retention of NDL-PCBs by the soil matrix

No significant correlation was found between the OM characteristics, and the BC or OC content ($p > 0.10$). Those characteristics as well as NDL-PCBs concentrations are highly distributed (*cf.* Appendix 1, Figure 53, p131) and no correlations were found between them for almost all comparisons ($R^2 < 0.22$, $p > 0.10$) except pH vs clay. This absence of 2-by-2 variables correlation allowed to perform a principal component analysis PCA, in order to qualitatively determine the effect of each soil-characteristics (content of OC, BC and clay, concentrations of NDL-PCBs and pH). The explained variance was rather high (78.2%). The first component (X-axis, Figure 52) explained 44.2% of the variance whereas the second one (Y-axis, Figure 52) explained 34.0% (PCB 153).

The first component comprised mainly RBA, OC and clay content (above the mean contribution of 0.64). Except pH, the other parameters could not be neglected, as they were above the square of the mean contribution (*cf.* Appendix 1, Tableau 18, p132). This first component discriminated a soil presenting large amounts of OC and BC, and a reduced RBA compared to those soils presenting low OC content as well as high proportion of clay and high levels of RBA. The second component (Y-axis), comprised mainly pH, OC, RBA and clay content. This second axis discriminated soils presenting high amount of OC with relatively small amount of BC to those presented high amount of BC in regards of their OC content.

When analysing the repartition of variables (Figure 52) RBA appeared to be negatively correlated to OC content. As the rate of agreement between variables is expressed by strength (length to origin) and direction of variables (Figure 52) further observations could be realised. RBA was negatively correlated to OC and NDL-PCBs concentrations in soils. As strength exhibited by NDL-PCBs concentrations is the lowest one, NDL-PCBs seems to be the less informative variable of the exhibited variance. BC content appeared also weakly-correlated to RBA as directions of these variables are almost perpendicular. The same consideration could be raised for clay and pH which had a rather limited impact on RBA. For other congeners, it appeared that these observations are in line with those from PCB 153.

Two main soil groups could be distinguished. On the one hand, soils with high amounts of OC (>10%) and BC (>0.3%) and resulting in significantly reduced RBA (<80%) (A2, B2, B3 and D) and on the other hand soils presenting low OC content (<5%) and high RBA (A1, B1, C, E1 and E2).

OC in soil is a well-known characteristic that plays a major role in NDL-PCBs retention (Cornelissen *et al.*, 2005 ; Pignatello, 1998). In contrast, artificial soil devoid of organic matter did not present any significant reduction of RBA (Delannoy *et al.*, 2014). Such results were also obtained in the present study for soil presenting high amounts of clay and low content of OC. This could be explained by the specific apolarity of NDL-PCBs leading to low retention by clay. In addition, clay structure could be intensively degraded

along variations of electrochemical conditions (Chenu, 1993) during the digestive process. This impact may lead to a lower retention of apolar compounds by clay than OC. Conversely, since NDL-PCBs are apolar molecules, pH seems to have only a slight incidence on the RBA.

BC is known to be a particular reservoir for environmental contaminants. However this parameter seems to present rather limited negative-correlation to RBA found in the present study. Despite soil-samples could exhibit higher levels of BC (0.62% of DW), RBA found in the present study are far higher than those observed from artificial soils with activated carbon (1% of DW) (Delannoy *et al.*, 2014). Quality of OM has been highlighted to have a major impact on RBA (Delannoy *et al.*, 2014 ; Saghir *et al.*, 2007). Condensed organic matter is already known to sequester NDL-PCBs during digestive processes of piglets (Delannoy *et al.*, 2014). This observation could be explained by 1/ the particular physical properties of activated carbon which is far more nanoporous than BC and 2/ the difference in terms of quantity of BC (<0.7% in the present study and 1% in the previous one (Delannoy *et al.*, 2014)).

Overall, OC appears to be the main factor affecting soil bound NDL-PCBs retention through the digestive process.

f. Processes of sequestration of NDL-PCBs

Retention of POPs by soil is known to be caused by adsorption on specific components like OM. During the digestive processes, a desorption of those sequestered contaminants should firstly occur before the absorption step. A solubilisation state has to be achieved before to be absorbed by the organism. As NDL-PCBs are lipophilic molecules (log *K_{ow}* of 6.33 to 7.22 (N. Li *et al.*, 2003)), this aqueous solubilisation should be very limited. In contrast, the present results show that even soils presenting high amounts of OC (>10%), bioavailability is high (>45%). Indeed, digestion is a dynamic process involving specific mechanisms such as 1/micellar solubilisation (Oomen *et al.*, 2004) and 2/concentrations gradient (Kelly *et al.*, 2004). These elements explain the particular digestive efficiency despite the high lipophilicity of such molecules by improving the apparent solubilisation and partitioning of these molecules in aqueous phase. They also highlight that, for common soils, a limited reduction of RBA NDL-PCBs is expected.

APPENDIX

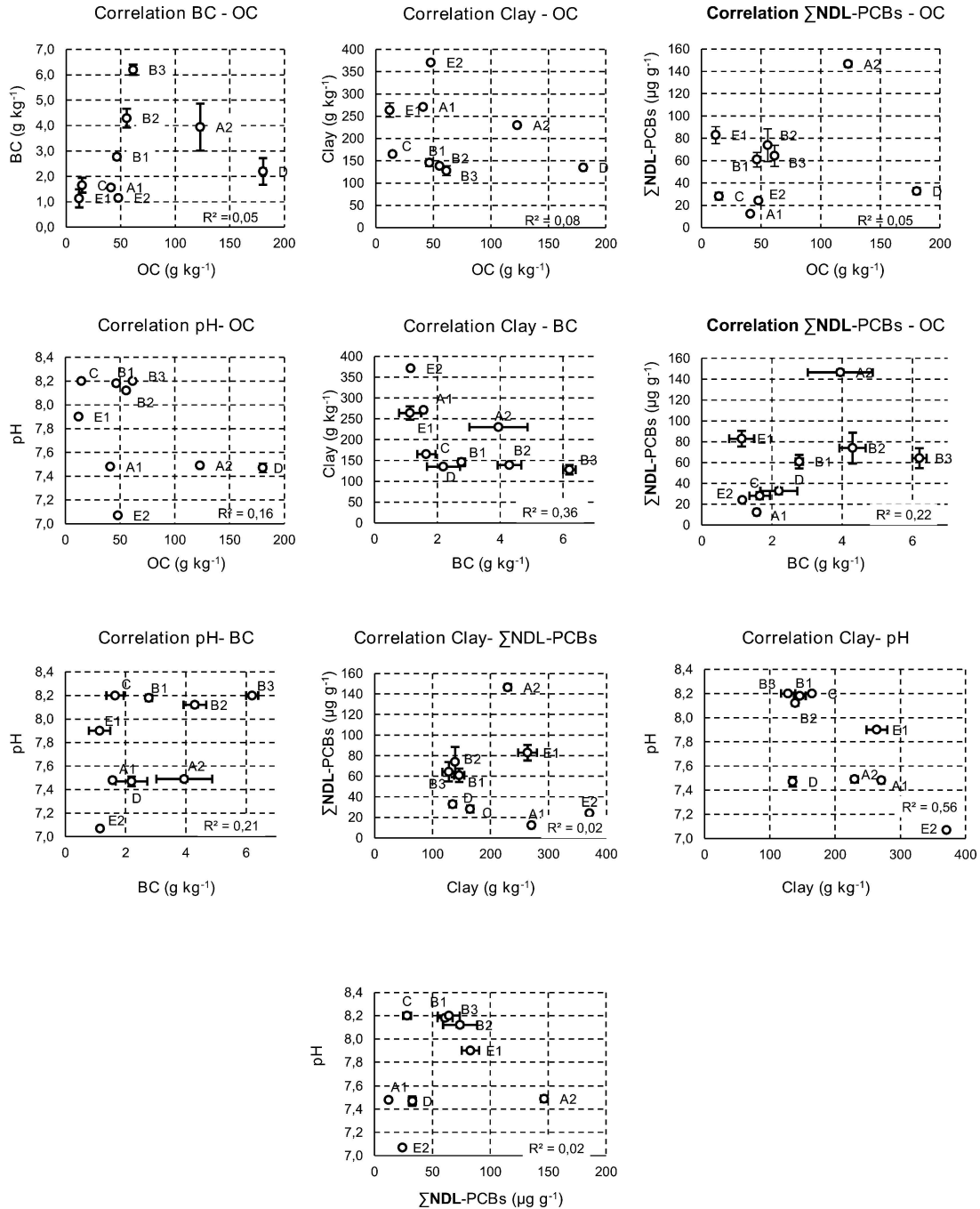


Figure 53: Correlations between soil characteristics

Each point represents plotted soil characteristic against another one. Each value represents the mean data ($n=2$ for BC, OC contents, $n=3$ for NDL-PCB concentrations). Error bars correspond to the standard deviation of each value.

	pH	OC	BC	∑NDL-PCBs	clay
pH	1,00				
OC	-0,40	1,00			
BC	0,45	0,23	1,00		
∑NDL-PCBs	0,13	0,22	0,46	1,00	
clay	-0,75	-0,28	-0,60	-0,13	1,00
RBA 101	-0,03	-0,53	-0,63	-0,67	0,31
RBA 138	0,00	-0,74	-0,48	-0,33	0,49
RBA 153	0,29	-0,94	-0,39	-0,36	0,32
RBA 180	0,25	-0,82	-0,44	-0,07	0,33

Tableau 18 : Correlation matrix as calculated during PCA analysis (Pearson coefficients)

Each value corresponds to the correlation coefficient between two characteristics (pH, organic carbon (OC), black carbon (BC) and clay content, sum of the four NDL-PCBs (\sum NDL-PCBs)) or the RBA of PCB 101, PCB 138, PCB 153 and PCB 180 (respectively RBA 101, RBA 138, RBA 153 and RBA 180)

7

Discussion Générale

Parmi les facteurs qui déterminent l'intensité de l'exposition, la biodisponibilité apparaît de première importance, elle conditionne, en effet, la dose pénétrant l'organisme. Comme souligné en synthèse bibliographique, peu de données ont été publiées sur la biodisponibilité *in vivo* des PCB-NDL présents dans des sols. Davantage d'informations sont disponibles sur la rétention et la mobilisation des polluants organiques du sol par des procédés physico-chimiques basés, ou non, sur des processus physiologiques. Il apparaît, ainsi, que le sol est considéré comme une matrice pouvant avoir une grande capacité de rétention. Les résultats présentés dans les chapitres 4 à 6 ont permis de mettre en évidence le rôle et l'impact de la matière organique du sol sur la biodisponibilité et finalement d'explicitier cet impact. La biodisponibilité relative obtenue sur un modèle animal (porcelet) apparaît représentative des conditions digestives de l'enfant.

Dans un premier temps, cette discussion générale s'intéresse aux variations de biodisponibilité relative obtenues pour les sols naturels. Les mécanismes responsables de la biodisponibilité des PCB seront évoqués. Comme nous l'avons souligné la digestion est une étape déterminante dans l'absorption des PCB. La prise en considération de certains de ces mécanismes biologiques, permettant de mieux appréhender la faible rétention des PCB par le sol, sera également abordée dans une deuxième partie. Finalement l'apport de ces travaux en termes d'EQRS sera précisé.

1. Le sol : son impact sur la biodisponibilité relative des PCB

a. Les caractéristiques du sol : détermination de leur importance respective

Le sol contaminé est un réservoir pour les contaminants organiques apolaires et, notamment, pour les PCB. La rétention des PCB par le sol lors du processus digestif est due au maintien des forces électrochimiques liant les PCB au sol. Si l'on suppose que cette désorption est l'étape préliminaire nécessaire à l'absorption des PCB (Pu *et al.*, 2006), il faut s'attendre à ce que ces caractéristiques jouent un rôle majeur dans la biodisponibilité des PCB du sol.

Le sol étant une matrice hétérogène complexe, la démarche utilisée a distingué la phase minérale de la phase organique. Le taux de C_{org} est négativement corrélé à la biodisponibilité relative évaluée sur les 10 sols historiquement contaminés. Ainsi, les sols présentant une faible teneur en carbone organique (tels que les sols C, E₁ et E₂) ont révélé des niveaux élevés de biodisponibilité relative (entre 85 et 110%) non significativement différents de 100%.

La matière organique est particulièrement importante à considérer lors de l'étude de la biodisponibilité relative. En revanche, la phase minérale seule semble moins expliquer les niveaux de biodisponibilité retrouvés.

b. Rétention des POP par la matière organique durant la digestion

Au-delà de la quantité, la qualité de la matière organique est apparue comme un facteur prépondérant au cours des travaux de cette thèse. Si la biodisponibilité des PCB n'est pas modifiée par la présence d'acides

fulviques, les acides humiques réduisent quant à eux la biodisponibilité des PCB (50%). Ces résultats distincts soulignent des comportements de rétention différents selon les caractéristiques de la matière organique présente.

La sorption des PCB augmente avec le taux de carbone organique présent dans le sol (NEPI, 2000 ; Pu *et al.*, 2006) et avec le K_{oc} de cette matière organique (Gong *et al.*, 1998 ; Mechlińska *et al.*, 2009). Ce dernier caractérise la partition entre le sol et l'eau des contaminants tels que les PCB. Ainsi, l'acide fulvique ne semble pas permettre une rétention significative des PCB comparativement à l'huile. Les acides fulviques (Swansee River) présenteraient un K_{oc} plus faible (3,89) (Chiou *et al.*, 1987 ; Chiou *et al.*, 1986 cités par Mackay *et al.*, 2006) comparativement aux autres matières organiques employées au cours des tests impliquant les sols artificiels. *A contrario*, les substances humiques (Fluka, Sigma-Aldrich) présentent un K_{oc} plus élevé (4,84) (Chiou *et al.*, 1987 ; cité par Mackay *et al.*, 2006). Cette caractéristique pourrait être une piste d'explication à la baisse sensible de biodisponibilité observée. Des K_{oc} bien plus importants sont disponibles pour le charbon actif (8,44-9,55 entre les différents congénères) (Jonker et Koelmans, 2002). Toutefois, ces données sont à considérer comme des ordres de grandeur, le K_{oc} étant particulièrement dépendant (1) de la structure des acides humiques (2) et des propriétés physico-chimiques de la molécule étudiée (Niederer *et al.*, 2007). Ainsi, ces données ne sont pas forcément généralisables à l'ensemble des PCB. Cette approche de *ranking* permettrait de saisir certaines différences de biodisponibilités mises en évidence lors de nos études sur sols artificiels, avec un piégeage des PCB en fonction du K_{oc} .

Ce K_{oc} intervient dans une modélisation de données de biodisponibilité obtenues sur porcelets (James *et al.*, 2011). Cette étude procède à l'évaluation de la biodisponibilité des HAP contaminant les sols et essaye de déterminer les processus physiques pouvant être à l'origine de la biodisponibilité mesurée pour les HAP. La base de cette modélisation reprend le concept de « fugacité » développé par Don Mackay (Mackay, 1979). Afin de cerner les processus physiques en cause, James *et al.* (2011) corrèlent la « capacité de fugacité³ » du sol et la « capacité de fugacité » de l'eau à la biodisponibilité obtenue sur les porcelets. Cette « capacité de fugacité » est une valeur d'autant plus importante que le milieu associé a tendance à retenir le composé étudié. Les calculs suivants ont été repris du travail de James *et al.* (2011).

³ : Traduction française de l'expression anglaise « *fugacity capacity* » (James *et al.*, 2011 ; Mackay, 1982).

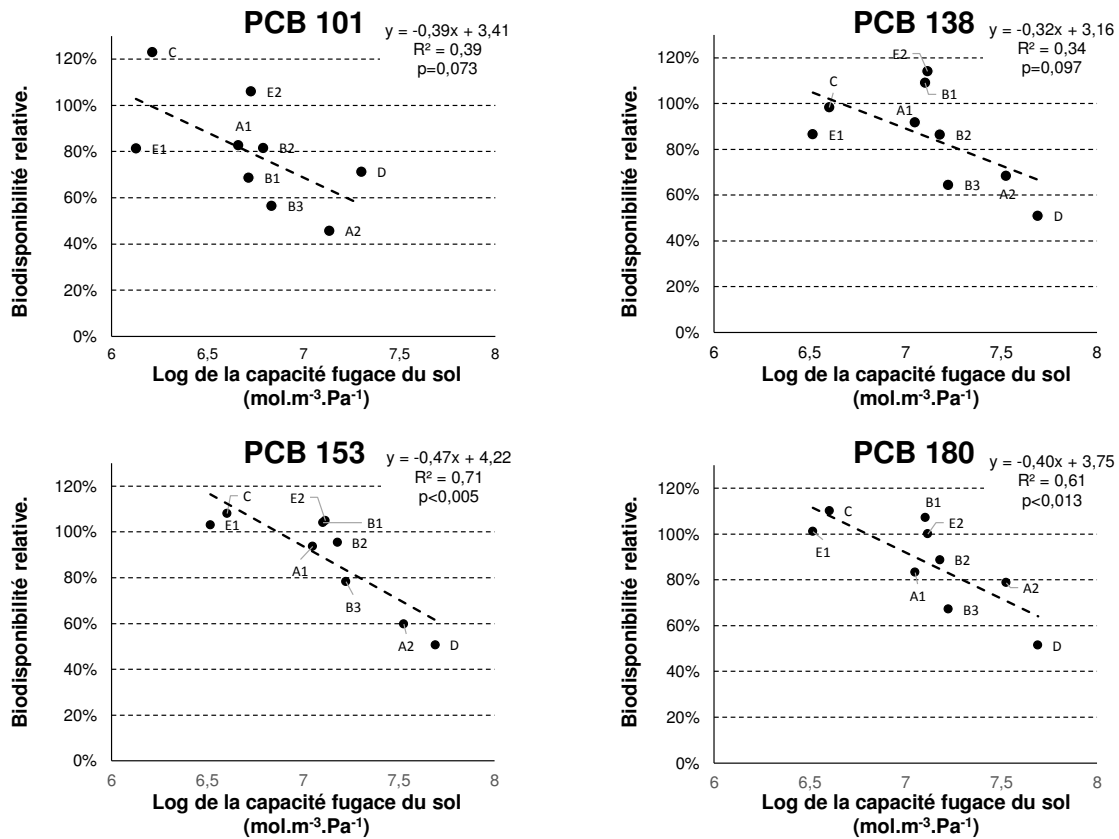


Figure 54: Relation entre les biodisponibilités relatives retrouvées après exposition des porcelets à des sols historiquement contaminés et la capacité de fugacité du sol telle que définie par Mackay (James *et al.*, 2011 ; Mackay, 1982)

Les valeurs de K_{oc} génériques, de K_{ow} , pression de vapeur et solubilité proviennent de Li *et al.*, (2003). La densité des particules de sol a été fixée à 2,65 (James *et al.*, 2011).

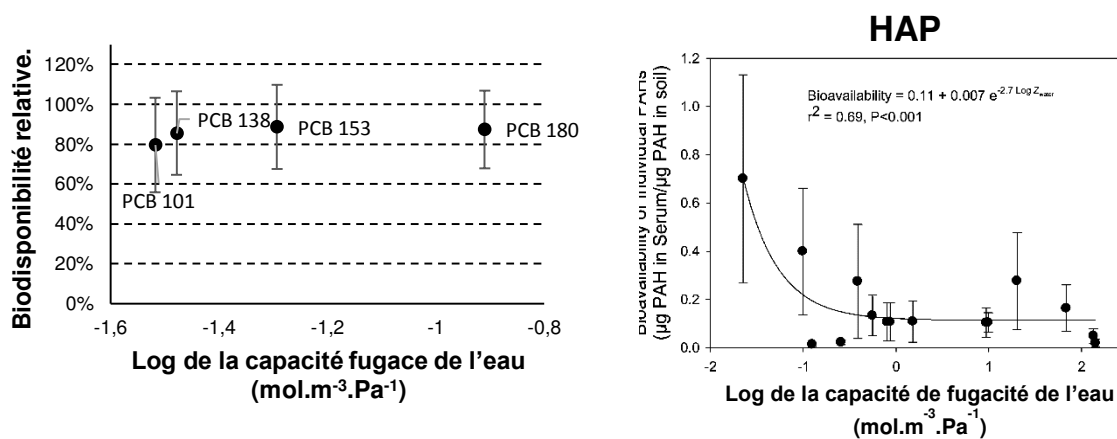


Figure 55 : Comparaison des biodisponibilités relatives retrouvées après exposition des porcelets à des sols historiquement contaminés aux PCB (présente étude) et aux HAP (James *et al.*, 2011) et la capacité de fugacité de l'eau telle que définie par Mackay (James *et al.*, 2011 ; Mackay, 1982)

Les valeurs de pression de vapeur et de solubilité proviennent de Li *et al.*, (2003). La méthode de calcul de la capacité de fugacité de l'eau a été décrite précédemment (James *et al.*, 2011 ; Mackay, 1982). Les valeurs représentent les moyennes géométriques de biodisponibilité relative pour chaque congénère pour l'ensemble des sols ayant pris part aux études. Les données des travaux de cette thèse sont comparées à des données précédemment obtenues pour les HAP (James *et al.*, 2011).

Reprinted with permission from (James *et al.*, 2011). Copyright © 2011 American Chemical Society.

- « Capacité de fugacité » du sol

$$Z_{sol} = \frac{\text{solubilité}}{\text{pression de vapeur}} \times \text{Carbone organique du sol} \times K_{oc} \times \text{Densité de particule de sol}$$

Z_{sol} : « capacité de fugacité » du sol ($\text{mol.m}^{-3}.\text{Pa}^{-1}$)

Carbone organique du sol : taux de carbone organique du sol mesuré pour chaque sol.

K_{oc} : coefficient de partage eau – carbone organique

Densité de particule de sol : fixée à 2,65 mais dépendante de la granulométrie (James *et al.*, 2011)

Solubilité : solubilité aqueuse du composé étudié en mol.m^{-3} , les données ont été obtenues de Li *et al.* (2003) pour chaque congénère

Pression de vapeur : pression de vapeur du composé étudié en Pa, les données ont été obtenues de Li *et al.* (2003) pour chaque congénère

- « Capacité de fugacité » de l'eau

$$Z_{eau} = \frac{\text{solubilité}}{\text{pression de vapeur}}$$

Z_{sol} : « capacité de fugacité » du sol ($\text{mol.m}^{-3}.\text{Pa}^{-1}$)

Solubilité : solubilité aqueuse du composé étudié en mol.m^{-3} , les données ont été obtenues de Li *et al.* (2003) pour chaque congénère

Pression de vapeur : pression de vapeur du composé étudié en Pa, les données ont été obtenues de Li *et al.* (2003) pour chaque congénère

Dans notre cas, les « capacités de fugacités » calculées du sol et de l'eau renseignent respectivement (1) sur la capacité du sol à retenir les PCB-NDL, (2) sur la capacité de l'eau à prendre en charge les PCB-NDL, ici les solubiliser (le chyme est considéré, ici, uniquement comme un milieu aqueux).

Une corrélation négative entre le log de la capacité de fugacité calculée et la biodisponibilité relative a été obtenue pour l'ensemble des sols et congénères ($p < 0,10$) (cf Figure 54). Elle est de même significative pour les PCB 153 et 180 ($p < 0,05$) (cf Figure 54). Ainsi, la désorption des PCB du sol apparaît être le facteur discriminant majeur expliquant les niveaux de biodisponibilité relative obtenus. Toutefois, il serait intéressant de déterminer si des K_{oc} mesurés permettraient d'améliorer cette relation.

Outre la désorption, la solubilisation des composés est déterminante et conditionnerait la biodisponibilité. En effet, la capacité de fugacité de l'eau a pu être significativement corrélée à la biodisponibilité des HAP

(James *et al.*, 2011) (*cf* Figure 55). Cette relation souligne que la biodisponibilité des HAP serait limitée par leur prise en charge dans la phase aqueuse du chyme gastro-intestinal *i.e.* par leur solubilisation. En utilisant la même démarche, la capacité de fugacité de l'eau a été calculée pour les sols historiquement contaminés ayant été utilisés au cours des études. Il n'a pu être mis en évidence ce même caractère limitant pour les PCB alors même que la capacité de fugacité calculée correspond à la portion infléchie de la courbe des HAP (*cf* Figure 55). Au regard de la biodisponibilité élevée des PCB, il apparaît que la solubilisation dans l'eau n'est pas un facteur limitant de leur de biodisponibilité.

En résumé, la matière organique joue un rôle particulièrement important dans la rétention des PCB. Ses caractéristiques apparaissent comme déterminantes dans la rétention des PCB au cours des processus digestifs. Ainsi, les résultats issus des sols artificiels montrent l'importance potentielle du *black carbon* et du piégeage découlant de sa structure nanoporeuse dans la diminution de la biodisponibilité.

2. Mécanismes de rétention de la matière organique lors des processus digestifs

Le caractère hydrophobe des PCB limite grandement leur solubilisation dans l'eau. Pourtant, les données de biodisponibilité moyennes obtenues (>80%), similaires pour l'ensemble des congénères, semblent indiquer que la prise en charge des PCB-NDL restreinte à leur solubilisation dans la phase aqueuse du chyme gastro-intestinal ne peut être l'unique facteur explicatif. Ces éléments souligneraient que considérer le chyme gastro-intestinal comme une phase uniquement aqueuse ne permet pas de modéliser correctement les processus digestifs. Aussi, afin de mieux expliquer les événements ayant lieu dans ce chyme gastro-intestinal, il apparaît nécessaire de s'intéresser à l'ensemble des étapes aboutissant au transfert des PCB du sol à l'organisme en appréhendant un modèle moins simpliste.

a. Impact des conditions électrochimiques du tube digestif sur la rétention des polluants par le sol

Le sol se caractérise non seulement par sa composition mais également par sa structure. Comme nous avons pu le souligner dans la synthèse bibliographique (*cf.* chapitre 1), les complexes argilo-humiques sont importants à considérer et leur structure peut déterminer la rétention des contaminants organiques.

Lors des processus digestifs de nombreuses modifications physico-chimiques ont lieu. Ces modifications peuvent aboutir à une nette perturbation de cette structure et, également, modifier intensément les relations électro-chimiques à la base même de la sorption des contaminants organiques sur les constituants du sol.

Selon l'organisme, les conditions électrochimiques du tube digestif diffèrent. Elles impliquent un effet plus ou moins important sur la structure du complexe argilo-humique.

Afin d'illustrer cette variabilité d'impact, le transfert d'un pesticide organochloré (le chlordécone) du sol vers la plante ou du sol vers l'animal sera pris en exemple et détaillé dans les paragraphes suivants.

Le chlordécone a été largement épandu aux Antilles possèdent des sols contrastés, notamment le nitisol et l'andosol qui diffèrent par les caractéristiques de leur argile. Respectivement, ces deux sols comprennent

une argile lamellaire (hyalosite) ou une argile fractale à la structure nanoporeuse particulière (l'allophane). La structure de cette argile allophanique est considérée comme la cause déterminante de la rétention du chlordécone par le sol (Cabidoche *et al.*, 2009). La structure nanoporeuse du complexe argilo-humique expliquerait la nette différence de K_{oc} observée pour ces deux sols : 4000-4200 L.kg⁻¹ (pour le nitisol) contre plus de 17000 L.kg⁻¹ pour l'andosol (Cabidoche et Lesueur-Jannoyer, 2012). Cette nanoporosité (pores de taille <50 nm) supportée par l'allophane serait à l'origine de la rétention du chlordécone (Woignier *et al.*, 2012) et du carbone organique (Chevallier *et al.*, 2010). En parallèle de l'impact de la nanoporosité de l'argile, la structure nanoporeuse du charbon actif apparaît déterminante dans la sorption et le relargage du chlordécone par le charbon actif (Durimel *et al.*, 2013).

Cette structure particulière du sol peut être modifiée par différents facteurs tels que le pH, le vieillissement du sol et les cycles de séchage-réhydratation, comme détaillé en synthèse bibliographique. Les variations électrochimiques du milieu dans lequel se trouve le sol sont également susceptibles d'engendrer des variations importantes de la microstructure de l'argile (Chenu, 1993). Ainsi, lors d'études du transfert du chlordécone vers les végétaux, l'allophane réduit considérablement la biodisponibilité du chlordécone pour certaines plantes comparativement à des sols sans cette argile (Cabidoche et Lesueur-Jannoyer, 2012). Cette nanostructure est donc efficiente pour retenir le chlordécone pour la plante comme le suggérait le K_{oc} . L'animal lui n'est pas sensible à cette structure nanoporeuse comme en témoigne des essais sur porcelets (Bouveret *et al.*, 2013), poules (Jondreville *et al.*, 2013) et agneaux (Jurjanz *et al.*, 2014) montrant une biodisponibilité totale du chlordécone séquestré dans l'argile allophanique. Les variations physiques et électrochimiques ayant lieu durant la digestion, chez l'animal permet d'expliquer que cette structure nanoporeuse n'est plus à même de retenir le chlordécone. Ceci n'est pas le cas pour le charbon actif, qui retient fortement les PCB-NDL durant les processus digestifs (chapitres 4 et 5). En effet, sa structure nanoporeuse serait à même d'être maintenu du fait de sa composition riche en carbone, limitant grandement sa réactivité.

La désorption des contaminants, étape apparemment limitante, pourrait être fortement augmentée par les conditions électrochimiques au sein du tube digestif. Concernant l'argile, la structure même de cette dernière serait largement dégradée.

b. Augmentation de la solubilisation et de la diffusion des PCB-NDL par les processus digestifs

Une fois désorbés, les PCB-NDL doivent pouvoir migrer jusqu'à la barrière biologique, ce qui nécessite une solubilisation. En phase aqueuse celle-ci est limitante du fait de l'hydrophobicité de ces molécules ($\log K_{ow} > 5,91$). Pourtant, comme expliqué dans la première partie de cette discussion, cette étape ne semble pas être limitante chez le porcelet. Chez le monogastrique, on constate contrairement à la plante, une solubilité apparente très élevée et induite par la présence de micelles. Le cœur lipidique des micelles permet une diffusion des PCB désorbés vers ce compartiment, tandis que la couche externe des micelles assure la solubilisation en milieu aqueux, ainsi qu'une capacité à franchir la *unstirred water layer*. Cet effet micellaire dépend de l'hydrophobicité des molécules, il est croissant depuis un log de K_{ow} de 3 jusqu'à environ 7. Les

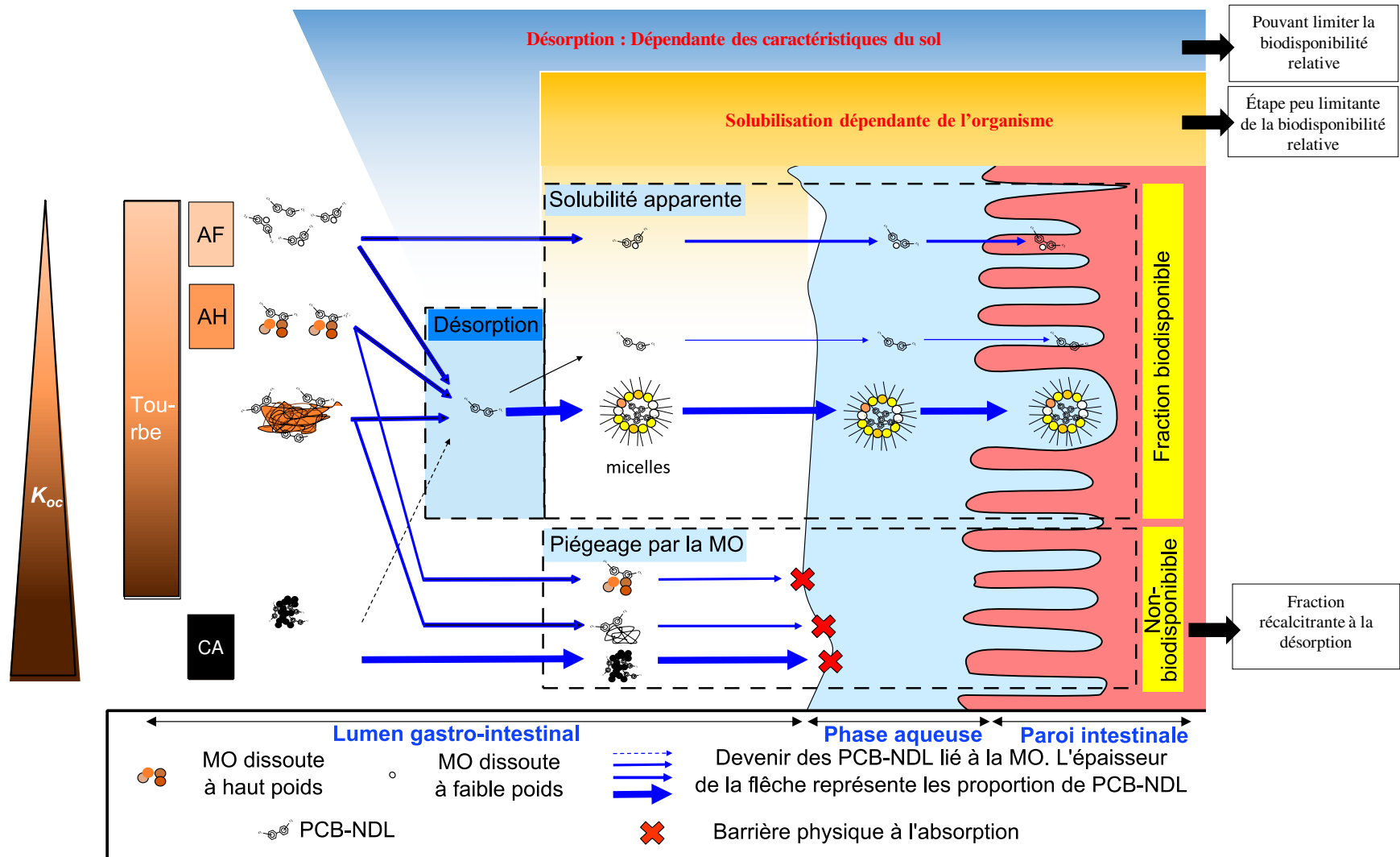


Figure 56: Approche mécanistique de la rétention et de la biodisponibilité des PCB-NDL lors de la digestion

AF : acides fulviques ; AH : acides humiques ; MO : matière organique ; CA : charbon actif ; K_{oc} : coefficient de partition matière organique eau

PCB pour lesquels la biodisponibilité relative a pu être calculée (PCB 101, 138, 153 et 180) ont un log de K_{ow} compris entre 6,33 et 7,16 (N. Li *et al.*, 2003). Ainsi, ce sont des molécules qui bénéficient « au maximum » de ce transport micellaire.

Les micelles du chyme gastro-intestinal permettent une augmentation sensible de la diffusion lors de la digestion. Ainsi, le flux des lipides entre le chyme gastro-intestinal et le milieu interne est supporté par un gradient maintenu par l'organisme, du fait de la transformation des monoglycérides et acides gras en triglycérides dans l'épithélium intestinal (Schlummer *et al.*, 1998). La digestibilité des lipides chez le jeune monogastrique, notamment le porcelet, est connue comme très élevée (93 – 97%) (Orban et Harmon, 2000).

La solubilisation des PCB en milieu aqueux est limitée du fait de leur lipophilicité. L'organisme, lors des processus digestifs, augmente très significativement cette solubilisation par la formation de micelles. Le couplage de ces formes de transport (aqueux et micellaire) et le maintien d'un flux de lipides, permet une solubilisation non limitante. Ces mécanismes sont en adéquation avec le fait que la solubilisation aqueuse seule explique peu les données de biodisponibilité relative observées au cours de ces travaux (cf Figure 55) et la biodisponibilité élevée des composés organiques du sol chez l'animal.

3. Apport des études pour l'évaluation des risques sur sites et sols contaminés aux PCB

a. Évaluation de l'exposition externe et applications en termes d'évaluation quantitative des risques sanitaires.

Dans ce travail les biodisponibilités relatives observées ont systématiquement été supérieures à 35% (hors charbon actif) que ce soit pour les sols naturels ou artificiels. Ces résultats sont en adéquation avec des données précédemment publiées sur la biodisponibilité des PCB (Fries et Marrow, 1992 ; Fries *et al.*, 1989 ; Pu *et al.*, 2006). Ainsi des niveaux de biodisponibilité relative entre 86,9% et 98,9% avaient été obtenus dans un essai expérimental sur rats testant 5 sols différents (Pu *et al.*, 2006). Seuls quelques sols artificiels avaient révélé des niveaux de biodisponibilité très faibles (non significativement différents de 0%) lorsque du charbon actif avait été rajouté comme unique source de matière organique. Lorsqu'une autre matière organique était associée, cette diminution de biodisponibilité relative était bien plus faible (35-55% de biodisponibilité relative pour le sol comprenant de la tourbe de Sphaigne et du charbon actif). Cette rétention plus faible serait due à la compétition entre les deux types de matière organique.

Les biodisponibilités relatives moyennes obtenues pour les 9 sols historiquement contaminés prélevés ont été de $79,6 \pm 15,8\%$ pour le PCB 101 ; $85,5 \pm 20,9\%$ pour le PCB 138 ; $88,6 \pm 21,1\%$ pour le PCB 153 et $87,4 \pm 19,5\%$ pour le PCB 180 (moyenne $\pm 2 \times$ erreur standard). En se focalisant sur ces valeurs moyennes, il apparaît que la dose d'exposition externe est diminuée par un facteur compris entre 1,1 et

	poids moyen (Kg)	Exposition alimentaire		Exposition sol							
				Zones agricole et d'herbage		Zones industrielles		Sols contaminés			
		Contamination (ng.g ⁻¹ de sol)		1 ^d	3 ^d	10 ^d	30 ^d	63 320	1000	500	
enfant		Médiane	p90	médiane	p90	médiane	p90	médiane	Simulation	simulation	
5-6 mois	5 ^a	Exposition en	1,16 ^b	3,64 ^b	0,02	0,06	0,20	0,60	1266	20,0	10,0
7-12 mois	7,7 ^a	ng.Kg ⁻¹ de poids corporel. g ⁻¹	1,87 ^b	6,72 ^b	0,01	0,04	0,13	0,39	822	13,0	6,49
1-3 ans	12,25 ^a		2,85 ^b	10,05 ^b	0,01	0,02	0,08	0,24	517	8,16	4,08
3 - 6ans	17,3 ^a		3,77 ^{#c}	11,7 ^{*c}	0,01	0,02	0,06	0,17	366	5,78	2,89

Tableau 19 : Comparaison de l'exposition aux PCB par voie alimentaire et par ingestion involontaire de sol suivant les scénarios retenus.

Ce tableau reprend les niveaux d'exposition aux PCB par voie alimentaire tels qu'ils ont été évalués par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) lors des études d'alimentation totale (EAT)

^b : EAT infantile : document en cours de préparation par l'ANSES

^c : EAT 2 : (ANSES, 2011)

Les poids moyens sur la tranche d'âge considérée ont été calculés à partir des tables de développement disponibles sur le site du Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes

^a : (DGS, 2006)

Les données des zones « agricoles et d'herbage » ainsi que celles des zones industrielles sont celles présentées en synthèse bibliographique et correspondent à des zones dont aucun historique de contamination n'est connu.

^d : source : (Lead *et al.*, 1997 ; Meijer *et al.*, 2003 ; U.S. EPA, 2007d)

Les données de quantité de sol ingérée utilisées correspondent à celles conseillées par l'U.S. Environmental Protection Agency pour l'ingestion de sol et de poussières pour les enfants de 1 à 6 ans, il s'agit de la tendance centrale conseillée par cette agence : 100 mg par jour et par enfant (U.S. EPA, 2011).

: données correspondant à la moyenne de l'exposition par voie alimentaire

* : données correspondant au p95 de l'exposition par voie alimentaire.

1,3 pour les PCB 101, 138, 153 et 180. Si la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95% est retenue afin d'être conservateur (moyenne + 2 × erreur standard), la biodisponibilité relative à utiliser en évaluation de risque serait de 100% pour les PCB 101, 138, 153 et 180 respectivement. Ceci montre que pour la moyenne des sols étudiés, il n'est pas pertinent de chercher à corriger la dose externe par un facteur de biodisponibilité relative. Seul l'un des sols a une biodisponibilité relative nettement diminuée (égale à environ 45%) mais le même raisonnement conservateur amenant à utiliser la borne supérieure de l'intervalle de confiance donne des valeurs proches de 75%. Ainsi la dose externe ne serait diminuée que d'un facteur 1,25, ce qui ne semble pas justifier la mise en place d'une évaluation systématique de ce paramètre, même *via* des tests *in vitro*. En effet, l'incertitude globale inhérente à l'EQRS est largement supérieure à ce facteur de 1,25.

Au regard des données de biodisponibilité relative obtenues, il apparaît que l'évaluation de l'exposition externe par le produit de la quantité de sol ingéré et sa concentration en PCB, ne correspond pas à une attitude conservatrice par excès mais à une forme de réalisme.

b. Évaluation comparative de l'exposition aux PCB-NDL par voie alimentaire et par ingestion involontaire de sols contaminés

L'ingestion de PCB-NDL par voie alimentaire est une préoccupation sanitaire majeure ayant fait l'objet, en France, d'évaluations sanitaires successives par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES). Comme cela a été montré au cours du paragraphe précédent, la dose d'exposition externe est assimilable à celle présente dans le sol pour les PCB-NDL. Afin de positionner quantitativement l'exposition externe *via* le sol et *via* l'alimentation, une comparaison a été effectuée sur la base de plusieurs scénarios (*cf* Tableau 19).

- L'ingestion de sol a été fixée à 100 mg.j⁻¹ et par enfant quel que soit l'âge de l'enfant considéré.
- Les classes d'âge des enfants sont tirées des Études d'Alimentations Totale 2 (EAT2) ou infantile (EATi). 4 classes ont, ainsi, été retenues : 5-6 mois, 7 à 12 mois, 13 à 36 mois et supérieure à 36 mois.
- Les valeurs d'exposition par classe d'âge sont la médiane et le p90 pour les enfants inférieurs à 36 mois, et la moyenne et la p95 pour les enfants âgés de plus de 36 mois
- Les données ayant soutenu l'analyse ont été tirées de la bibliographie (Lead *et al.*, 1997 ; Meijer *et al.*, 2003 ; U.S. EPA, 2007d) pour lesquelles 2 catégories ont été discriminées, les sols issus de zone agricole, zone industrielle (valeurs médiane et p90), de notre étude (médianes des 23 sols prélevés) et enfin d'une simulation de 2 sols contaminés à 500 et 1000 ng 6 PCB-NDL.g⁻¹.
- La BR a été fixée à 100%.

Il ressort de ce calcul que, pour des sols contaminés à hauteur du bruit de fond ou appartenant à la catégorie « zone industrielle », l'exposition due à l'ingestion involontaire de sol est nettement inférieure à celle d'origine alimentaire et cela quel que soit l'âge de l'enfant. Ainsi pour les enfants de 5 à 6 mois,

la population la plus exposée par voie alimentaire, une ingestion de 100 mg par kg de poids corporel de sols industriels représenterait une exposition au minimum 5,8 fois plus faible que celle d'origine alimentaire. En revanche pour les sols dont la contamination excède 500 ng.g⁻¹ une exposition au moins 17 fois plus élevée que la voie alimentaire est retrouvée. Ce seuil de concentration dans le sol (500 ng 6 PCB-NDL.g⁻¹) coïncide également avec le franchissement de la VTR (DJT de 10 ng 6 PCB-NDL par Kg de poids corporel et par jour) pour les enfants de 4 à 5 mois. En considérant les sols utilisés dans nos études, il faut noter que même une quantité infime de sol ingéré (1 mg par enfant) induirait une exposition plus importante que la voie alimentaire et un franchissement de la VTR.

En conséquence, dans un contexte de site pollué par les PCB-NDL un sol de concentration supérieure à 500 ng.g⁻¹ représenterait une voie d'exposition non seulement supérieure à celle de l'alimentation mais un risque toxicologique majeur.

8

Conclusion Générale et Perspectives

Actuellement, l'évaluation des risques liée à l'ingestion involontaire de sol contaminé par les PCB par l'enfant fixe la dose d'exposition externe égale à la dose présente dans le sol. En l'état, cette approche suppose que l'ensemble de la dose ingérée est biodisponible. Dans le cadre de ce travail de thèse, les études de biodisponibilité relative ont permis d'estimer le potentiel de transfert des PCB-NDL du sol vers le porcelet, modèle animal pertinent pour représenter les processus digestifs de l'enfant.

Ainsi, il a été mis en évidence que la biodisponibilité des PCB-NDL du sol était liée aux caractéristiques de ce dernier, et en particulier à celles de sa matière organique. Ainsi une teneur élevée de matière organique (>10%) a pu être associée à une diminution de la biodisponibilité relative. En termes de qualité, c'est son degré de condensation qui apparaît être un facteur clé : la nanoporosité étant le lieu de fixation des PCB et cette structuration est conservée lors des processus digestifs du porcelet. Toutefois cet impact ne s'est avéré significatif que pour des sols artificiels comprenant comme unique source de matière organique du charbon actif. En analysant les caractéristiques de sols historiquement contaminés, cet impact a été sensible : les taux élevés de *black carbon* (>0,3%) ont pu être reliés à une diminution de la biodisponibilité relative.

Il a été montré que l'étape la plus limitante de la biodisponibilité correspond à la désorption des PCB de la matrice sol. Malgré des $\log K_{ow}$ importants, la biodisponibilité relative des PCB n'est apparemment pas impactée par la solubilité de ces molécules dans la phase aqueuse du chyme gastro-intestinal. Si les propriétés physico-chimiques du sol et des PCB tendent à expliquer les données de biodisponibilité relative par la désorption, les processus digestifs sont à l'origine de l'absence d'impact de la solubilisation. Ainsi, les processus digestifs du porcelet, comme ceux de l'enfant, augmente la solubilisation de ces PCB *via* des micelles et un flux de lipides du contenu digestif vers le compartiment de distribution interne.

Malgré l'impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité relative, il apparaît que la biodisponibilité relative n'a jamais été inférieure à 45% pour les sols contaminés étudiés. Ainsi, en se focalisant sur les biodisponibilités moyennes obtenues pour les 9 sites et sols pollués, la biodisponibilité relative a été supérieure à 80%. Si dans un objectif protecteur la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95% de cette moyenne est retenue, la BR ne peut être distinguée de 100%. Au regard des données de biodisponibilité relative, il apparaît qu'estimer l'exposition externe comme le produit de la quantité de sol ingéré par sa concentration en PCB, n'est pas une attitude conservatrice par excès mais une approche réaliste.

En comparaison à la voie alimentaire considérée comme majoritaire pour les PCB, l'exposition via l'ingestion de sol pollué apparaît critique pour des sols dont la concentration en PCB est supérieure à 500 ng 6 PCB-NDL par g. A ces niveaux, non seulement l'exposition par ingestion de sol est supérieure à l'exposition par voie alimentaire, mais elle conduit au dépassement de la VTR.

Nos travaux se sont basés sur l'évaluation de la biodisponibilité relative des PCB du sol en employant le porcelet comme modèle du tractus digestif de l'enfant. Les coûts associés à de telles expérimentations et surtout les enjeux éthiques poussent à développer des méthodes soit de substitution, soit complémentaires de l'expérimentation animale. Plusieurs pistes pourraient être développées, dont trois seront abordées ci-

après : la mise en place de tests strictement *in vitro* mimétiques des conditions physico-chimiques digestives, le développement de tests utilisant compartiment biologique *in vitro* ou *ex vivo* et une approche plutôt *in silico*.

L'utilisation de tests *in vitro* basés sur des processus physiologiques afin de déterminer la biodisponibilité des contaminants métalliques est de plus en plus employée en sciences environnementales. Cette approche est déjà réalisée en Allemagne où le test DIN est employé en routine à des fins d'évaluation des risques. Cette approche consiste à reproduire les conditions digestives de l'enfant ou de l'Homme et apparaît être l'alternative la plus proche de la modélisation animale. Il serait, ainsi, intéressant de procéder à une comparaison entre les niveaux de biodisponibilité relative obtenus et ceux de tels tests. Une telle approche a déjà été validée pour les contaminants métalliques (Caboche, 2009 ; Denys *et al.*, 2012). Pour les PCB, cette approche devrait être étayée, une seule étude a comparé la biodisponibilité relative chez le rat et un test de bioaccessibilité. Une absence de corrélation a, par ailleurs, été notée (Pu *et al.*, 2006).

L'utilisation de culture cellulaires permettant de reconstituer un épithélium intestinal (co-culture Caco-2 et HT 29) pourrait permettre de tester l'effet des micelles sur l'aptitude à franchir la barrière de différents polluants. L'intérêt de ce modèle est de permettre de jouer sur la densité, la composition des micelles (composition des lipides internes par exemple) et de modifier également leur taille et le ratio surface/volume. Ces éléments seraient utiles à l'extrapolation vers des modèles digestifs divergents ruminant versus monogastrique ou monogastrique terrestre versus poisson carnivore. Ils pourraient être prévalidés par l'utilisation de modèles *ex vivo*, par individualisation de sacs éversés issus des différents organismes biologiques d'intérêt.

La discussion générale a permis d'aborder des approches de modélisation de la biodisponibilité en reprenant les bases théoriques de la fugacité. Si une première approche s'est avérée trop simpliste pour appréhender globalement les processus déterminant le transfert des PCB du sol à l'animal ou l'homme, cette démarche apparaît prometteuse et pourrait être étoffée. Si le processus de prise en charge par les micelles est déjà développé pour les contaminants organiques (Kelly *et al.*, 2004), la désorption facilitée apparaît comme peu prise en compte. Il serait donc important de multiplier les approches avec les polluants et les sols pour déterminer quelles limites ce modèle pourrait avoir en l'état et déterminer des pistes d'amélioration. D'autres approches se basent sur les caractéristiques du sol et de la molécule pour quantifier les forces de liaison entre la matière organique et la molécule. Cette approche apparaît déjà prometteuse pour prédire les K_{oc} des molécules (Niederer *et al.*, 2007). D'autres approches abordent également la force de ces rétention par l'emploi de méthode d'extraction séquentielle, comme par exemple la méthode CISED (Wragg et Cave, 2012). Ces approches sont autant d'éléments indiquant que les mécanismes jouant sur le transfert des polluants du sol à l'homme est une source de questionnement permanent.

Comme il a été souligné en introduction, l'homme a engendré de nombreuses pollutions au cours des deux derniers siècles. Le sol est un témoin manifeste de ces contaminations et son rôle de réservoir vis à vis des

autres compartiments de l'écosystème en fait une matrice clé dans l'évaluation et la gestion des risques chimiques. Au-delà des PCB la liaison de nombreux autres POP à ce compartiment et leur capacité à être désorbés puis captés par les organismes vivants sont au centre des questions écotoxicologiques. L'approche menée sur les PCB permet d'imaginer des voies de réflexion pour d'autres POP aux propriétés contrastées, tels l'HBDCD ou les PBDE, mais aussi les HAP qui dans des sols pollués par des combustions incomplètes sont plus imbriqués dans la matière organique du sol (dont ils peuvent même être un des constituants significatifs) et pour lesquels une liaison plus forte pourrait être attendue.

Références Bibliographiques

AFNOR. « X 31-107, Détermination de la distribution granulométrique des particules du sol ». *Normes Fr.* [En ligne]. 20 août 2003. Disponible sur : < www.afnor.fr > (consulté le 15 octobre 2014)

Agarwal, S.P., Anwer, M.K., Aqil, M., 2008. Complexation of furosemide with fulvic acid extracted from shilajit: A novel approach. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 34, 506–511. doi:10.1080/03639040701744053

Agarwal, S.P., Aqil, M., Anwer, M.K., 2007. Enhancement of the dissolution and diuretic effect of furosemide through a novel complexation with humic acid extracted from shilajit. *Asian J. Chem.* 19, 4711–4718.

Alcántara, M.T., Gómez, J., Pazos, M., Sanromán, M.A., 2009. PAHs soil decontamination in two steps: Desorption and electrochemical treatment. *J. Hazard. Mater.* 166, 462–468. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.11.050

ANSES, 2007. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'établissement de teneurs maximales pertinentes en polychlorobiphényles qui ne sont pas de type dioxine (PCB « non dioxin-like », PCB-NDL) dans divers aliments (Avis No. 2006-SA-0305), Alimentation et nutrition humaine. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Maisons-Alfort, France.

ANSES. *Étude de l'alimentation totale française 2 - Tome 1* [En ligne]. Maisons-Alfort, France : ANSES, 2011. (Avis de l'ANSES). Disponible sur : < <https://www.anses.fr/fr/documents/PASER2006sa0361Ra1.pdf> > (consulté le 13 octobre 2014)

ANSES, n.d. *Étude de l'alimentation totale infantile (Rapport d'expertise)*, Avis de l'ANSES. ANSES, Maisons-Alfort, France.

Anwer, M.K., Agarwal, S.P., Ali, A., Sultana, Y., 2009. Molecular complexes of aspirin with humic acid extracted from shilajit and their characterization. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 67, 209–215. doi:10.1007/s10847-009-9699-2

Appert-Collin, J.C., Dridi-Dhaouadi, S., Simonnot, M.O., Sardin, M., 1999. Nonlinear sorption of naphthalene and phenanthrene during saturated transport in natural porous media. *Phys. Chem. Earth Part B Hydrol. Oceans Atmosphere* 24, 543–548.

ATSDR, 2000. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.

Becker, M.M., Gamble, W., 1982. Determination of the binding of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl by low density lipoprotein and bovine serum albumin. *J. Toxicol. Environ. Health* 9, 225–234. doi:10.1080/15287398209530157

Birnbaum, L.S., 1983. Distribution and excretion of 2, 3, 6, 2', 3', 6'-and 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl in senescent rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 70, 262–272.

Blankenship, A.L., Zwiernik, M.J., Coady, K.K., Kay, D.P., Newsted, J.L., Strause, K., Park, C., Bradley, P.W., Neigh, A.M., Millsap, S.D., Jones, P.D., Giesy, J.P., 2005. Differential Accumulation of Polychlorinated Biphenyl Congeners in the Terrestrial Food Web of the Kalamazoo River Superfund Site, Michigan. *Env. Sci Technol* 39, 5954–5963. doi:10.1021/es0483185

Bogan, B.W., Sullivan, W.R., 2003. Physicochemical soil parameters affecting sequestration and mycobacterial biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Chemosphere* 52, 1717–1726. doi:10.1016/S0045-6535(03)00455-7

Boix, J., Cauli, O., Felipo, V., 2010. Developmental exposure to polychlorinated biphenyls 52, 138 or 180 affects differentially learning or motor coordination in adult rats. Mechanisms involved. *Neuroscience* 167, 994–1003. doi:10.1016/j.neuroscience.2010.02.068

Boix, J., Cauli, O., Leslie, H., Felipo, V., 2011. Differential long-term effects of developmental exposure to polychlorinated biphenyls 52, 138 or 180 on motor activity and neurotransmission. Gender dependence and mechanisms involved. *Neurochem. Int.* 58, 69–77. doi:10.1016/j.neuint.2010.10.014

Bordelon, N.R., Donnelly, K.C., King, L.C., Wolf, D.C., Reeves, W.R., George, S.E., 2000. Bioavailability of the genotoxic components in coal tar contaminated soils in Fischer 344 rats. *Toxicol. Sci.* 56, 37–48.

Borlakoglu, J.T., Welch, V.A., Wilkins, J.P.G., Dils, R.R., 1990. Transport and cellular uptake of polychlorinated biphenyls (PCBs) - I. Association of individual PCB isomers and congeners with plasma lipoproteins and proteins in the pigeon. *Biochem. Pharmacol.* 40, 265–272.

Bouchard, M., Viau, C., 1999. Urinary 1-hydroxypyrene as a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: Biological monitoring strategies and methodology for determining biological exposure indices for various work environments. *Biomarkers* 4, 159–187.

Bouveret, C., Rychen, G., Lerch, S., Jondreville, C., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound Chlordecone in piglets. *J. Agric. Food Chem.* 61, 9269–9274. doi:10.1021/jf400697r

Breivik, K., Sweetman, A., Pacyna, J.M., Jones, K.C., 2002. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners — a mass balance approach: 1. Global production and consumption. *Sci. Total Environ.* 290, 181–198. doi:10.1016/S0048-9697(01)01075-0

BRGM. *Basias, inventaire historique de sites industriels et activités de service* [En ligne]. Disponible sur : < <http://basias.brgm.fr/> > (consulté le 29 septembre 2014)

Budinsky, R.A., Rowlands, J.C., Casteel, S., Fent, G., Cushing, C.A., Newsted, J., Giesy, J.P., Ruby, M.V., Aylward, L.L., 2008. A pilot study of oral bioavailability of dioxins and furans from contaminated soils: Impact of differential hepatic enzyme activity and species differences. *Chemosphere* 70, 1774–1786. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.08.035

Burgess, R.M., Pelletier, M.C., Gundersen, J.L., Perron, M.M., Ryba, S.A., 2005. Effects of different forms of organic carbon on the partitioning and bioavailability of nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 1609–1617.

Burkhard L. P. « Physical-chemical properties of the polychlorinated biphenyls: measurement, estimation, and application to environmental systems ». 1984. Disponible sur : < <http://www.osti.gov/scitech/biblio/5929922> > (consulté le 19 septembre 2014)

Busbee, D.L., Yoo, J.S.H., Norman, J.O., Joe, C.O., 1985. Polychlorinated biphenyl uptake and transport by lymph and plasma components (42073). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 179, 116–122.

Busbee, D.L., Ziprin, R.L., 1994. Gastrointestinal uptake and vascular transport of 2,4'-dichlorobiphenyl. *Arch. Toxicol.* 68, 96–102.

Cabidoche, Y.M., Achard, R., Cattani, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F., Sansoulet, J., 2009. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. *Environ. Pollut.* 157, 1697–1705.

Cabidoche, Y.M., Lesueur-Jannoyer, M., 2012. Contamination of Harvested Organs in Root Crops Grown on Chlordecone-Polluted Soils. *Pedosphere* 22, 562–571. doi:10.1016/S1002-0160(12)60041-1

Caboche, J., 2009. Validation d'un test de mesure de bioaccessibilité : application à quatre éléments traces métalliques dans les sols : As, Cd, Pb et Sb. Institut National Polytechnique de Lorraine (INPL) Ecole Doctorale Sciences et Ingénieurs des Ressources, Procédés, Produits, Environnement (RP2E) Laboratoire Unité de recherche animal et fonctionnalités des produits animaux (URAFPA), Vandoeuvre-les-Nancy.

Cabrera Mesa, A., Spokas, K., 2011. Impacts of biochar (black carbon) additions on the sorption and efficacy of herbicides, in: Kortekamp, A. (Ed.), *Herbicides and Environment*. InTech, Rijeka, Croatia, pp. 315–340.

Calabrese, E.J., Stanek III, E.J., Pekow, P., Barnes, R.M., 1997. Soil Ingestion Estimates for Children Residing on a Superfund Site. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 36, 258–268. doi:10.1006/eesa.1996.1511

Calvet, R., 2005. *Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales*. France Agricole Editions.

Caria, G., Arrouays, D., Dubromel, E., Jolivet, C., Ratié, C., Bernoux, M., Barthès, B.G., Brunet, D., Grinand, C., 2011. Black carbon estimation in French calcareous soils using chemo-thermal oxidation method. *Soil Use Manage* 27, 333–339.

Carroll, K., Harkness, M., Bracco, A., Balcarcel, R., 1994. Application of a permeant polymer diffusional model to the desorption of polychlorinated-biphenyls from hudson river sediments. *Environ. Sci. Technol.* 28, 253–258. doi:10.1021/es00051a011

Casteel, S.W., Cowart, R.P., Weis, C.P., Henningsen, G.M., Hoffman, E., Brattin, W.J., Guzman, R.E., Starost, M.F., Payne, J.T., Stockham, S.L., Becker, S.V., Drexler, J.W., Turk, J.R., 1997. Bioavailability of Lead to Juvenile Swine Dosed with Soil from the Smuggler Mountain NPL Site of Aspen, Colorado. *Toxicol. Sci.* 36, 177–187. doi:10.1093/toxsci/36.2.177

Casteel, S.W., Weis, C.P., Henningsen, G.M., Brattin, W.J., 2006. Estimation of relative bioavailability of lead in soil and soil-like materials using young swine. *Environ. Health Perspect.* 114, 1162–1171. doi:10.1289/ehp.8852

Cauchi, A., Vignoles, C., 2011. *Petites installations d'assainissement*. Editions TECHNIP.

Cave, M.R., Wragg, J., Harrison, I., Vane, C.H., Van De Wiele, T., De Groeve, E., Nathanail, C.P., Ashmore, M., Thomas, R., Robinson, J., Daly, P., 2010. Comparison of Batch Mode and Dynamic Physiologically Based Bioaccessibility Tests for PAHs in Soil Samples. *Environ. Sci. Technol.* 44, 2654–2660.

Chai, Y., Currie, R.J., Davis, J.W., Wilken, M., Martin, G.D., Fishman, V.N., Ghosh, U., 2011. Effectiveness of activated carbon and biochar in reducing the availability of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins/Dibenzofurans in soils. *Environ. Sci. Technol.* 46, 1035–1043. doi:10.1021/es2029697

Chefetz, B., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Guthrie, E.A., 2000. Pyrene Sorption by Natural Organic Matter. *Env. Sci Technol* 34, 2925–2930. doi:10.1021/es9912877

Chenu, C., 1993. Clay-or sand-polysaccharide associations as models for the interface between micro-organisms and soil: water related properties and microstructure. *Geoderma* 56, 143–156.

Chin, Y.-P., Aiken, G.R., Danielsen, K.M., 1997. Binding of Pyrene to Aquatic and Commercial Humic Substances: The Role of Molecular Weight and Aromaticity. *Env. Sci Technol* 31, 1630–1635. doi:10.1021/es960404k

Chiou, C.T., Kile, D.E., 1998. Deviations from sorption linearity on soils of polar and nonpolar organic compounds at low relative concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 32, 338–343.

Chiou, C.T., Kile, D.E., Brinton, T.I., Malcolm, R.L., Leenheer, J.A., MacCarthy, P., 1987. A comparison of water solubility enhancements of organic solutes by aquatic humic materials and commercial humic acids. *Environ. Sci. Technol.* 21, 1231–1234. doi:10.1021/es00165a012

Chiou, C.T., Kile, D.E., Rutherford, D.W., Sheng, G., Boyd, S.A., 2000. Sorption of Selected Organic Compounds from Water to a Peat Soil and Its Humic-Acid and Humic Fractions: Potential Sources of the Sorption Nonlinearity. *Environ. Sci. Technol.* 34, 1254–1258. doi:10.1021/es990261c

Choi, K.-I., Lee, S.-H., Osako, M., 2009. Leaching of brominated flame retardants from TV housing plastics in the presence of dissolved humic matter. *Chemosphere* 74, 460–466. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.08.030

Corami, F., Capodaglio, G., Turetta, C., Bragadin, M., Calace, N., Petronio, B., 2007. Complexation of cadmium and copper by fluvial humic matter and effects on their toxicity. *Ann. Chim.* 97, 25–37. doi:10.1002/adic.200690083

Corey, D.A., Juárez, de K.L., Bingman, V.P., Meserve, L.A., 1996. Effects of exposure to polychlorinated biphenyl (PCB) from conception on growth, and development of endocrine, neurochemical, and cognitive measures in 60 day old rats. *Growth Dev. Aging GDA* 60, 131–143.

Cornelissen, G., Breedveld, G.D., Kalaitzidis, S., Christanis, K., Kibsgaard, A., Oen, A.M.P., 2006. Strong sorption of native PAHs to pyrogenic and unburned carbonaceous geosorbents in sediments. *Environmental Sci. Technol.* 40, 1197–1203. doi:10.1021/es0520722

Cornelissen, G., Gustafsson, Ö., Bucheli, T.D., Jonker, M.T.O., Koelmans, A.A., van Noort, P.C.M., 2005. Extensive Sorption of Organic Compounds to Black Carbon, Coal, and Kerogen in Sediments and Soils: Mechanisms and Consequences for Distribution, Bioaccumulation, and Biodegradation. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6881–6895. doi:10.1021/es050191b

Cornelissen, G., Rigterink, H., Ferdinandy, M.M.A., van Noort, P.C.M., 1998. Rapidly Desorbing Fractions of PAHs in Contaminated Sediments as a Predictor of the Extent of Bioremediation. *Env. Sci Technol* 32, 966–970. doi:10.1021/es9704038

Cravedi, J.-P., Narbonne, F., 2002. Données récentes sur l'évaluation des dangers liés à la présence de PCB dans l'alimentation. Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), Maisons Alfort.

Dahl, P., Lindström, G., Wiberg, K., Rappe, C., 1995. Absorption of polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans by breast-fed infants. *Chemosphere* 30, 2297–2306. doi:10.1016/0045-6535(95)00102-E

Davis, S.S., Illum, L., Hinchcliffe, M., 2001. Gastrointestinal transit of dosage forms in the pig. *J. Pharm. Pharmacol.* 53, 33–39. doi:10.1211/0022357011775163

Delannoy, M., Rychen, G., Fournier, A., Jondreville, C., Feidt, C., 2014. Effects of condensed organic matter on PCBs bioavailability in juvenile swine, an animal model for young children. *Chemosphere* 104, 105–112. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.072

Denys, S., Caboche, J., Tack, K., Rychen, G., Wragg, J., Cave, M., Jondreville, C., Feidt, C., 2012. In vivo validation of the unified barge method to assess the bioaccessibility of arsenic, antimony, cadmium, and lead in soils. *Environ. Sci. Technol.* 46, 6252–6260. doi:10.1021/es3006942

Devito, M.J., Maier, W.E., Diliberto, J.J., Birnbaum, L.S., 1993. Comparative ability of various PCBs, PCDFs, and TCDD to induce cytochrome P450 1A1 and 1A2 activity following 4 weeks of treatment. *Toxicol. Sci.* 20, 125–130. doi:10.1093/toxsci/20.1.125

De Voogt, P., Brinkman, U.A.T., 1989. CHAPTER 1 - Production, properties and usage of polychlorinated biphenyls, in: Jensen, R.D.K.A. (Ed.), Halogenated Biphenyls, Terphenyls, Naphthalenes, Dibenzodioxins and Related Products (Second Edition), Topics in Environmental Health. Elsevier, Amsterdam, pp. 3–45.

De Wiele, V., Richard, T., Verstraete, W., Siciliano, S.D., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbon release from a soil matrix in the in vitro gastrointestinal tract. *J. Environ. Qual.* 33, 1343–1353.

Doick, K.J., Burael, P., Jones, K.C., Semple, K.T., 2005. Distribution of aged ¹⁴C-PCB and ¹⁴C-PAH Residues in particle-size and humic fractions of an agricultural soil. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6575–6583. doi:10.1021/es050523c

Dragnev, K.H., Beebe, L.E., Jones, C.R., Fox, S.D., Thomas, P.E., Nims, R.W., Lubet, R.A., 1994. Sub-chronic Dietary Exposure to Aroclor 1254 in Rats: Accumulation of PCBs in Liver, Blood, and Adipose Tissue and Its Relationship to Induction of Various Hepatic Drug-Metabolizing Enzymes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 125, 111–122. doi:10.1006/taap.1994.1055

Drouillard, K.G., Norstrom, R.J., 2000. Dietary absorption efficiencies and toxicokinetics of polychlorinated biphenyls in ring doves following exposure to aroclor[®] mixtures. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 2707–2714. doi:10.1002/etc.5620191114

EFSA, 2010. Results of the monitoring of non dioxin-like PCBs in food and feed. *EFSA J.* 8, 1701–1736. doi:10.2903/j.efsa.2010.1701

Elnar, A.A., Diesel, B., Desor, F., Feidt, C., Bouayed, J., Kiemer, A.K., Soulimani, R., 2012. Neurodevelopmental and behavioral toxicity via lactational exposure to the sum of six indicator non-dioxin-like-polychlorinated biphenyls (Σ 6 NDL-PCBs) in mice. *Toxicology* 299, 44–54. doi:10.1016/j.tox.2012.05.004

European Commission, 2006. Commission Regulation (EU) No 1881/2006 of 19 december 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). *Off. J. Eur. Union* 364, 5–24.

European Commission, 2011. Commission Regulation (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending regulation (EC) no. 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. *Off. J. Eur. Union* 320, 18–23.

Faroon, O., Jones, D., Rosa, C.D., 2000. Effects of polychlorinated biphenyls on the nervous system. *Toxicol. Ind. Health* 16, 305–333. doi:10.1177/074823370001600708

Feidt, C., Ounnas, F., Julien-David, D., Jurjanz, S., Toussaint, H., Jondreville, C., Rychen, G., 2013. Relative bioavailability of soil-bound polychlorinated biphenyls in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 96, 3916–3923. doi:10.3168/jds.2012-6319

Fisher, H.L., Shah, P.V., Sumler, M.R., Hall, L.L., 1989. In vivo and in vitro dermal penetration of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-Hexachlorobiphenyl in young and adult rats. *Environ. Res.* 50, 120–139.

Fouchécourt, M.O., Arnold, M., Berny, P., Videmann, B., Rether, B., Rivière, J.L., 1999. Assessment of the bioavailability of PAHs in rats exposed to a polluted soil by natural routes: Induction of EROD activity and DNA adducts and PAH burden in both liver and lung. *Environ. Res.* 80, 330–339.

Fouchécourt, M.O., Berny, P., Rivière, J.L., 1998. Bioavailability of PCBs to Male Laboratory Rats Maintained on Litters of Contaminated Soils: PCB Burden and Induction of Alkoxyresorufin O-Dealkylase Activities in Liver and Lung. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 680–687. doi:10.1007/s002449900431

- Fournier, A., Feidt, C., Travel, A., Bizec, B.L., Venisseau, A., Marchand, P., Jondreville, C., 2012. Relative bioavailability to laying hens of indicator polychlorobiphenyls present in soil. *Chemosphere* 88, 300–306. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.02.041
- Fries, G.F., 1985. Bioavailability of soil-borne polybrominated biphenyls ingested by farm animals. *J. Toxicol. Environ. Health* 16, 565–579.
- Fries, G.F., Marrow, G.S., 1992. Influence of soil properties on the uptake of hexachlorobiphenyls by rats. *Chemosphere* 24, 109–113.
- Fries, G.F., Marrow, G.S., Snow, P.A., 1982. Soil ingestion by swine as a route of contaminant exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* 1, 201–204.
- Fries, G.F., Marrow, G.S., Somich, C.J., 1989. Oral bioavailability of aged polychlorinated biphenyl residues contained in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43, 683–690. doi:10.1007/BF01701988
- Furman, O., Strawn, D.G., McGeehan, S., 2007. Sample Drying Effects on Lead Bioaccessibility in Reduced Soil. *J. Environ. Qual.* 36, 899. doi:10.2134/jeq2006.0340
- Gaillard, J., Banas, D., Thomas, M., Fournier, A., Feidt, C., 2014. Bioavailability and bioaccumulation of sediment-bound polychlorinated biphenyls to carp. *Environ. Toxicol. Chem.* 33, 1324–1330. doi:10.1002/etc.2561
- Gallenberg, L.A., Ring, B.J., Vodcnik, M.J., 1990. The influence of time of maternal exposure to 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexachlorobiphenyl on its accumulation in their nursing offspring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 104, 1–8.
- Gallenberg, L.A., Vodcnik, M.J., 1987. Potential mechanisms for redistribution of polychlorinated biphenyls during pregnancy and lactation. *Xenobiotica* 17, 299–310.
- Gallenberg, L.A., Vodcnik, M.J., 1989. Transfer of persistent chemicals in milk. *Drug Metab. Rev.* 21, 277–317.
- Gallé, T., Grégoire, C., Wagner, M., Bierl, R., 2005. Bioavailability of HOC depending on the colloidal state of humic substances: A case study with PCB-77 and *Daphnia magna*. *Chemosphere* 61, 282–292. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.01.068
- Gobas, F.A.P.C., Kelly, B.C., Arnot, J.A., 2003. Quantitative structure activity relationships for predicting the bioaccumulation of POPs in terrestrial food-webs. *QSAR Comb. Sci.* 22, 329–336.
- Gomez-Eyles, J.L., Yupanqui, C., Beckingham, B., Riedel, G., Gilmour, C., Ghosh, U., 2013. Evaluation of biochars and activated carbons for *in situ* remediation of sediments impacted with organics, mercury, and methylmercury. *Environ. Sci. Technol.* 47, 13721–13729. doi:10.1021/es403712q
- Gong, Y., Depinto, J.V., Rhee, G.-Y., Liu, X., 1998. Desorption rates of two PCB congeners from suspended sediments---I. experimental results. *Water Res.* 32, 2507–2517. doi:10.1016/S0043-1354(97)00390-4
- Graber, E.R., Borisover, M.D., 1998. Evaluation of the glassy/rubbery model for soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3286–3292. doi:10.1021/es9801238
- Grandjean, P., Landrigan, P., 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet* 368, 2167–2178. doi:10.1016/S0140-6736(06)69665-7

- Grolimund, D., Borkovec, M., 2005. Colloid-Facilitated Transport of Strongly Sorbing Contaminants in Natural Porous Media: Mathematical Modeling and Laboratory Column Experiments†. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6378–6386. doi:10.1021/es050207y
- Grøn, C., Oomen, A., Weyand, E., Wittsiepe, J., 2007. Bioaccessibility of PAH from Danish soils. *J. Environ. Sci. Health - Part Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* 42, 1233–1239.
- Grova, N., Feidt, C., Laurent, C., Rychen, G., 2002. [14C] Milk, urine and faeces excretion kinetics in lactating goats after an oral administration of [14C]polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int. Dairy J.* 12, 1025–1031. doi:10.1016/S0958-6946(02)00126-7
- Guggenheim, S., Adams, J.M., Bain, D.C., Bergaya, F., Brigatti, M.F., Drits, V.A., Formoso, M.L.L., Galan, E., Kogure, T., Stanjek, H., 2006. Summary of recommendations of nomenclature committees relevant to clay mineralogy: report of the Association Internationale pour l'Etude des Argiles (AIPEA) Nomenclature Committee for 2006. *Clay Miner.* 41, 863–877. doi:10.1180/0009855064140225
- Gunasekara, A., Xing, B., 2003. Sorption and desorption of naphthalene by soil organic matter: Importance of aromatic and aliphatic components. *J. Environ. Qual.* 32, 240–246.
- Guo, L., Kelley, K., Goh, K.S., 2007. Evaluation of sources and loading of pesticides to the Sacramento River, California, USA, during a storm event of winter 2005. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 2274–2281.
- Gustafsson, Ö., Haghseta, F., Chan, C., MacFarlane, J., Gschwend, P.M., 1997. Quantification of the Dilute Sedimentary Soot Phase: Implications for PAH Speciation and Bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* 31, 203–209. doi:10.1021/es960317s
- Guthrie, E.A., Pfaender, F.K., 1998. Reduced Pyrene Bioavailability in Microbially Active Soils. *Env. Sci Technol* 32, 501–508. doi:10.1021/es970670d
- Härd, T., Barnes, H.J., Larsson, C., Gustafsson, J.-Å., Lund, J., 1995. Solution structure of a mammalian PCB-binding protein in complex with a PCB. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2, 983–989. doi:10.1038/nsb1195-983
- Hecht, S.S., Grabowski, W., Groth, K., 1979. Analysis of faeces for benzo[a]pyrene after consumption of charcoal-broiled beef by rats and humans. *Food Cosmet. Toxicol.* 17, 223–227. doi:10.1016/0015-6264(79)90284-0
- Heinrich-Hirsch, B., Beck, H., Chahoud, I., Grote, K., Hartmann, J., Mathar, W., 1997. Tissue distribution, toxicokinetics and induction of hepatic drug metabolizing enzymes in male rats after a single S.C. dose of 3,4,3',4'-tetrachlorobiphenyl (PCB-77). *Chemosphere* 34, 1523–1534. doi:10.1016/S0045-6535(97)00448-7
- Hogan, K., Marcus, A., Smith, R., White, P., 1998. Integrated exposure uptake biokinetic model for lead in children: empirical comparisons with epidemiologic data. *Environ. Health Perspect.* 106, 1557–1567.
- HSDB. « HSDB: Polychlorinated Biphenyls ». [s.l.] : TOXNET Toxicology Data Network, 2010. Disponible sur : < <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~UoJ4LN:3> > (consulté le 17 septembre 2014)
- Huang, W., Peng, P., Yu, Z., Fu, J., 2003. Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. *Appl. Geochem.* 18, 955–972. doi:10.1016/S0883-2927(02)00205-6
- Huang, W., Yu, H., Weber Jr., W.J., 1998. Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments: 1. A comparative analysis of experimental protocols. *J. Contam. Hydrol.* 31, 129–148. doi:10.1016/S0169-7722(97)00056-9

Hubert, F., 2008. Modélisation des diffractogrammes de minéraux argileux en assemblages complexes dans deux sols de climat tempéré : implications minéralogique et pédologique (Thèse de doctorat). Université de Poitiers. UFR des sciences fondamentales et appliquées, France.

Hwang, H.M., Wade, T.L., Sericano, J.L., 2003. Concentrations and source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons in pine needles from Korea, Mexico, and United States. *Atmos. Environ.* 37, 2259–2267.

Hwang, S., Cutright, T.J., 2002. The impact of contact time on pyrene sorptive behavior by a sandy-loam soil. *Environ. Pollut.* 117, 371–378.

Hwang, S., Cutright, T.J., 2004. Preliminary exploration of the relationships between soil characteristics and PAH desorption and biodegradation. *Environ. Int.* 29, 887–894.

Jablonowski, N.D., Linden, A., Köppchen, S., Thiele, B., Hofmann, D., Buraue, P., 2012. Dry–wet cycles increase pesticide residue release from soil. *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 1941–1947. doi:10.1002/etc.1851

Jacob, J., Raab, G., Soballa, V., Schmalix, W.A., Grimmer, G., Greim, H., Doehmer, J., Seidel, A., 1996. Cytochrome p450-mediated activation of phenanthrene in genetically engineered V79 Chinese hamster cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 1, 1–11.

Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., 1996. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *N. Engl. J. Med.* 335, 783–789.

Jacobson, J.L., Jacobson, S.W., Padgett, R.J., Brumitt, G.A., Billings, R.L., 1992. Effects of prenatal PCB exposure on cognitive processing efficiency and sustained attention. *Dev. Psychol.* 28, 297–306. doi:10.1037/0012-1649.28.2.297

Jakob, L., Hartnik, T., Henriksen, T., Elmquist, M., Brändli, R.C., Hale, S.E., Cornelissen, G., 2012. PAH-sequestration capacity of granular and powder activated carbon amendments in soil, and their effects on earthworms and plants. *Chemosphere* 88, 699–705. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.03.080

James, K., Peters, R.E., Laird, B.D., Ma, W.K., Wickstrom, M., Stephenson, G.L., Siciliano, S.D., 2011. Human exposure assessment: A case study of 8 PAH contaminated soils using in vitro digestors and the juvenile swine model. *Environ. Sci. Technol.* 45, 4586–4593.

Jondreville, C., Bouveret, C., Lesueur-Jannoyer, M., Rychen, G., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in laying hens (*Gallus domesticus*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 292–299. doi:10.1007/s11356-012-1010-1

Jonker, M.T.O., Smedes, F., 2000. Preferential Sorption of Planar Contaminants in Sediments from Lake Ketelmeer, The Netherlands. *Environ. Sci. Technol.* 34, 1620–1626. doi:10.1021/es9906251

Jonsson, S., Persson, Y., Frankki, S., van Bavel, B., Lundstedt, S., Haglund, P., Tysklind, M., 2007. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated soils by Fenton's reagent: A multivariate evaluation of the importance of soil characteristics and PAH properties. *J. Hazard. Mater.* 149, 86–96. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.03.057

Kaminsky, L.S., Kennedy, M.W., Adams, S.M., Guengerich, F.P., 1981. Metabolism of dichlorobiphenyls by highly purified isozymes of rat liver cytochrome P-450. *Biochemistry (Mosc.)* 20, 7379–7384.

Kan, C.A., 1994. Factors affecting absorption of harmful substances from the digestive tract of poultry and their level in poultry products. *Worlds Poult. Sci. J.* 50, 39–53.

- Kania-Korwel, I., Hornbuckle, K.C., Peck, A., Ludewig, G., Robertson, L.W., Sulkowski, W.W., Espaniari, P., Gairola, C.G., Lehmler, H.-J., 2005. Congener-Specific Tissue Distribution of Aroclor 1254 and a Highly Chlorinated Environmental PCB Mixture in Rats. *Environ. Sci. Technol.* 39, 3513–3520. doi:10.1021/es047987f
- Kania-Korwel, I., Shaikh, N.S., Hornbuckle, K.C., Robertson, L.W., Lehmler, H.-J., 2007. Enantioselective disposition of PCB 136 (2,2',3,3',6,6'-hexachlorobiphenyl) in C57BL/6 mice after oral and intraperitoneal administration. *Chirality* 19, 56–66. doi:10.1002/chir.20342
- Karapanagioti, H.K., Childs, J., Sabatini, D.A., 2001. Impacts of Heterogeneous Organic Matter on Phenanthrene Sorption: Different Soil and Sediment Samples. *Environ. Sci. Technol.* 35, 4684–4690. doi:10.1021/es010654n
- Kararli, T.T., 1995. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharm. Drug Dispos.* 16, 351–380. doi:10.1002/bdd.2510160502
- Karickhoff, S.W., Morris, K.R., 1985. Impact of tubificid oligochaetes on pollutant transport in bottom sediments. *Env. Sci Technol* 19, 51–56. doi:10.1021/es00131a004
- Kelley, N.E., Brauning, S.E., Schoof, R.A., Ruby, M.V., 2002. Assessing Oral Bioavailability of Metals in Soil. *J. Hazard. Mater.* 95, 331–332.
- Kelly, B.C., Gobas, F.A.P.C., McLachlan, M.S., 2004. Intestinal absorption and biomagnification of organic contaminants in fish, wildlife, and humans. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 2324–2336. doi:10.1897/03-545
- Kelsey, J.W., Alexander, M., 1997. Declining bioavailability and inappropriate estimation of risk of persistent compounds. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 582–585. doi:10.1002/etc.5620160327
- Kelsey, J.W., Kottler, B.D., Alexander, M., 1996. Selective Chemical Extractants To Predict Bioavailability of Soil-Aged Organic Chemicals. *Env. Sci Technol* 31, 214–217. doi:10.1021/es960354j
- Khan, S., Cao, Q., Lin, A.J., Zhu, Y.G., 2008. Concentrations and bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater-irrigated soil using in vitro gastrointestinal test. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 15, 344–353.
- Kodavanti, P.R.S., Ward, T.R., Derr-Yellin, E.C., Mundy, W.R., Casey, A.C., Bush, B., Tilson, H.A., 1998. Congener-Specific Distribution of Polychlorinated Biphenyls in Brain Regions, Blood, Liver, and Fat of Adult Rats Following Repeated Exposure to Aroclor 1254. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 153, 199–210. doi:10.1006/taap.1998.8534
- Koelmans, A.A., Jonker, M.T.O., Cornelissen, G., Bucheli, T.D., Van Noort, P.C.M., Gustafsson, Ö., 2006. Black carbon: The reverse of its dark side. *Chemosphere* 63, 365–377. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.08.034
- Koganti, A., Spina, D.A., Rozett, K., Ma, B.-L., Weyand, E.H., Taylor, B.B., Mauro, D.M., 1998. Studies on the applicability of biomarkers in estimating the systemic bioavailability of polynuclear aromatic hydrocarbons from manufactured gas plant tar-contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3104–3112.
- Koss, G., Meyer-Rogge, D., Seubert, S., Seubert, A., Losekam, M., 1993. 2,2',3',4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl (PCB 180) — on its toxicokinetics, biotransformation and porphyrinogenic action in female rats. *Arch. Toxicol.* 67, 651–654. doi:10.1007/BF01974073
- Kottler, B.D., White, J.C., Kelsey, J.W., 2001. Influence of soil moisture on the sequestration of organic compounds in soil. *Chemosphere* 42, 893–898. doi:10.1016/S0045-6535(00)00194-6

- Kukkonen, J.V.K., Landrum, P.F., Mitra, S., Gossiaux, D.C., Gunnarsson, J., Weston, D., 2004. The role of desorption for describing the bioavailability of select polycyclic aromatic hydrocarbon and polychlorinated biphenyl congeners for seven laboratory-spiked sediments. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1842–1851. doi:10.1897/03-474
- Kwon, S., Pignatello, J.J., 2005. Effect of natural organic substances on the surface and adsorptive properties of environmental black carbon (char): Pseudo pore blockage by model lipid components and its implications for N₂-probed surface properties of natural sorbents. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7932–7939. doi:10.1021/es050976h
- Lamoureux, E.M., Brownawell, B.J., 1999. Chemical and biological availability of sediment-sorbed hydrophobic organic contaminants. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 1733–1741.
- Laor, Y., Strom, P.F., Farmer, W.J., 1999. Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. *Water Res.* 33, 1719–1729.
- Laurent, C., Feidt, C., Grova, N., Mpassi, D., Lichtfouse, E., Laurent, F., Rychen, G., 2002. Portal absorption of ¹⁴C after ingestion of spiked milk with ¹⁴C-phenanthrene, ¹⁴C-benzo[a]pyrene or ¹⁴C-TCDD in growing pigs. *Chemosphere* 48, 843–848.
- Lead, W.A., Steinnes, E., Bacon, J.R., Jones, K.C., 1997. Polychlorinated biphenyls in UK and Norwegian soils: Spatial and temporal trends. *Sci. Total Environ.* 193, 229–236.
- Lesan, H.M., Bhandari, A., 2003. Atrazine sorption on surface soils: time-dependent phase distribution and apparent desorption hysteresis. *Water Res.* 37, 1644–1654. doi:10.1016/S0043-1354(02)00497-9
- Levin, E.D., Schantz, S.L., Bowman, R.E., 1988. Delayed spatial alternation deficits resulting from perinatal PCB exposure in monkeys. *Arch. Toxicol.* 62, 267–273.
- Li, H., Sheng, G., Teppen, B.J., Johnston, C.T., Boyd, S.A., 2003. Sorption and desorption of pesticides by clay minerals and humic acid-clay complexes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67, 122–131.
- Lilienthal, H., Heikkinen, P., Andersson, P.L., van der Ven, L.T.M., Viluksela, M., 2011. Auditory effects of developmental exposure to purity-controlled polychlorinated biphenyls (PCB52 and PCB180) in rats. *Toxicol. Sci.* 122, 100–111.
- Lilienthal, H., Winneke, G., 1991. Sensitive periods for behavioral toxicity of polychlorinated biphenyls: determination by cross-fostering in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 17, 368–375. doi:10.1016/0272-0590(91)90226-T
- Lind, Y., Glynn, A.W., 1999. The Influence of Humic Substances on the Absorption and Distribution of Cadmium in Mice. *Pharmacol. Toxicol.* 84, 267–273. doi:10.1111/j.1600-0773.1999.tb01493.x
- Li, N., Wania, F., Lei, Y.D., Daly, G.L., 2003. A comprehensive and critical compilation, evaluation, and selection of physical–chemical property data for selected polychlorinated biphenyls. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 32, 1545–1590.
- Littell, R.C., Henry, P.R., Lewis, A.J., Ammerman, C.B., 1997. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 75, 2672–2683.
- Lonky, E., Reihman, J., Darvill, T., Mather Sr., J., Daly, H., 1996. Neonatal Behavioral Assessment Scale Performance in Humans Influenced by Maternal Consumption of Environmentally Contaminated Lake Ontario Fish. *J. Gt. Lakes Res.* 22, 198–212. doi:10.1016/S0380-1330(96)70949-8

Lu, M., Yuan, D., Lin, Q., Ouyang, T., 2009. Assessment of the bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons in topsoils from different urban functional areas using an in vitro gastrointestinal test. *Environ. Monit. Assess. Environ. Monit Assess* 166, 29–39.

Lutz, R.J., Dedrick, R.L., Matthews, H.B., Eling, T.E., Anderson, M.W., 1977. A preliminary pharmacokinetic model for several chlorinated biphenyls in the rat. *Drug Metab. Dispos.* 5, 386–396.

Lutz, R.J., Dedrick, R.L., Tuey, D., Sipes, I.G., Anderson, M.W., Matthews, H.B., 1984. Comparison of the pharmacokinetics of several polychlorinated biphenyls in mouse, rat, dog, and monkey by means of a physiological pharmacokinetic model. *Drug Metab. Dispos.* 12, 527–535.

Lu, Y., Pignatello, J.J., 2002. Demonstration of the “Conditioning Effect” in Soil Organic Matter in Support of a Pore Deformation Mechanism for Sorption Hysteresis. *Env. Sci Technol* 36, 4553–4561. doi:10.1021/es020554x

Lyytikäinen, M., Rantalainen, A.-L., Mikkelsen, P., Hämäläinen, H., Paasivirta, J., Kukkonen, J.V.K., 2003. Similarities in bioaccumulation patterns of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and furans and polychlorinated diphenyl ethers in laboratory-exposed oligochaetes and semipermeable membrane devices and in field-collected chironomids. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 2405–2415. doi:10.1897/02-433

Mackay, D., 1982. Correlation of Bioconcentration Factors. *Environ. Sci. Technol.* 16, 274–278.

Makeyeva, V.I., 1989. Effect of wetting and drying on the soil structure. *Sov. Soil Sci. SSSCAE* 21, 81–89.

Malekani, K., Rice, J., Lin, J., 1997. The effect of sequential removal of organic matter on the surface morphology of humin. *Soil Sci.* 162, 333–342. doi:10.1097/00010694-199705000-00003

Maliwal, B.P., Guthrie, F.E., 1982. In vitro uptake and transfer of chlorinated hydrocarbons among human lipoproteins. *J. Lipid Res.* 23, 474–479.

Mao, J., Hundal, L., Thompson, M., Schmidt-Rohr, K., 2002. Correlation of poly(methylene)-rich amorphous aliphatic domains in humic substances with sorption of a nonpolar organic contaminant, phenanthrene. *Environ. Sci. Technol.* 36, 929–936. doi:10.1021/es011054r

Matthews, H.B., Anderson, M.W., 1975. The distribution and excretion of 2, 4, 5, 2', 5'-pentachlorobiphenyl in the rat. *Drug Metab. Dispos.* 3, 211–219.

Matthews, H.B., Dedrick, R.L., 1984. Pharmacokinetics of PCBs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. Annu Rev Pharmacol Toxicol* 24, 85–103.

Matthews, H.B., Tuey, D.B., 1980. The effect of chlorine position on the distribution and excretion of four hexachlorobiphenyl isomers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 53, 377–388.

McLachlan, M.S., 1993. Mass balance of polychlorinated biphenyls and other organochlorine compounds in a lactating cow. *J. Agric. Food Chem.* 41, 474–480.

McLachlan, M.S., Czub, G., Wania, F., 2002. The Influence of Vertical Sorbed Phase Transport on the Fate of Organic Chemicals in Surface Soils. *Environ. Sci. Technol.* 36, 4860–4867. doi:10.1021/es025662y

Mechlińska, A., Gdaniec-Pietryka, M., Wolska, L., Namieśnik, J., 2009. Evolution of models for sorption of PAHs and PCBs on geosorbents. *TrAC Trends Anal. Chem.* 28, 466–482. doi:10.1016/j.trac.2009.01.005

MEDDE. *Pollution des sols BASOL* [En ligne]. Disponible sur : < <http://basol.developpement-durable.gouv.fr/> > (consulté le 29 septembre 2014)

Meijer, S.N., Ockenden, W.A., Sweetman, A., Breivik, K., Grimalt, J.O., Jones, K.C., 2003. Global distribution and budget of PCBs and HCB in background surface soils: Implications for sources and environmental processes. *Environ. Sci. Technol.* 37, 667–672. doi:10.1021/es0258091

Minekus, M., Marteau, P., Havenaar, R., others, 1995. Multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. *Altern. Lab. Anim.* ATLA.

Mirvish, S.S., Ghadirian, P., Wallcave, L., Raha, C., Bronczyk, S., Sams, J.P., 1981. Effect of Diet on Fecal Excretion and Gastrointestinal Tract Distribution of Unmetabolized Benzo(a)pyrene and 3-Methylcholanthrene When These Compounds Are Administered Orally to Hamsters. *Cancer Res.* 41, 2289–2293.

Mirza, M.A., Agarwal, S.P., Iqbal, Z., 2011. Effect of fulvic acid on oral delivery of Carbamazepine. *Sci. Adv. Mater.* 3, 223–232. doi:10.1166/sam.2011.1149

Mohammed, A., Eklund, A., Östlund-Lindqvist, A.M., Slanina, P., 1990. Distribution of toxaphene, DDT, and PCB among lipoprotein fractions in rat and human plasma. *Arch. Toxicol.* 64, 567–571.

Morales, N.M., Tuey, D.B., Colburn, W.A., Matthews, H.B., 1979. Pharmacokinetics of multiple oral doses of selected polychlorinated biphenyls in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 48, 397–407.

Mühlebach, S., Bickel, M.H., 1981. Pharmacokinetics in rats of 2, 4, 5, 2', 4', 5-hexachlorobiphenyl, an unmetabolizable lipophilic model compound. *Xenobiotica* 11, 249–257.

Murano, H., Otani, T., Furubayashi, A., Yamamura, K., Kobayashi, K., Hiradate, S., 2008. Adsorption of Herbicidally Active Degradate 2-(2,4-Dichloro-3-methylphenoxy)propanoic Acid on an Andosol. *J Agric Food Chem* 56, 1350–1357. doi:10.1021/jf0729816

Murphy, E.M., Zachara, J.M., Smith, S.C., 1990. Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 24, 1507–1516. doi:10.1021/es00080a009

Nam, K., Kim, J.Y., 2002. Role of loosely bound humic substances and humin in the bioavailability of phenanthrene aged in soil. *Environ. Pollut.* 118, 427–433. doi:10.1016/S0269-7491(01)00296-2

NEPI, 2000. Assessing the Bioavailability of Metals in Soil for Use in Human Health Risk Assessments.

Nguyen, T.H., Goss, K.-U., Ball, W.P., 2005. Polyparameter Linear Free Energy Relationships for Estimating the Equilibrium Partition of Organic Compounds between Water and the Natural Organic Matter in Soils and Sediments. *Env. Sci Technol* 39, 913–924. doi:10.1021/es048839s

Niederer, C., Schwarzenbach, R.P., Goss, K.-U., 2007. Elucidating differences in the sorption properties of 10 humic and fulvic acids for polar and nonpolar organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.* 41, 6711–6717. doi:10.1021/es0709932

Nieman, J.K.C., Sims, R.C., Sims, J.L., Sorensen, D.L., McLean, J.E., Rice, J.A., 1999. [14C]Pyrene Bound Residue Evaluation Using MIBK Fractionation Method for Creosote-Contaminated Soil. *Environ. Sci. Technol.* 33, 776–781. doi:10.1021/es980609o

NRC, 2003. Bioavailability of contaminants in soils and sediments: processes, tools, and applications. National Academies Press, Washington, DC.

Núñez, E.V., Gaytán, A.G., Luna-Guido, M., Marsch, R., Dendooven, L., 2009. Impact of moisture dynamic and sun light on anthracene removal from soil. *Biodegradation* 20, 191–198. doi:10.1007/s10532-008-9212-4

OECD, 1984. Test n° 207 earthworm acute toxicity test, in: Section 4: Effects on Biotic Systems, Guideline for Testing of Chemicals. OECD Publishing, Paris.

Oomen, A.G., Brandon, E.F.A., Swartjes, F.A., Lijzen, J.P.A., Sips, A.J.A.M., 2006. How Can Information on Oral Bioavailability Improve Human Health Risk Assessment for Lead-contaminated Soils? Implementation and Scientific Basis. *Epidemiology*: 17, 1–108.

Oomen, A.G., Hack, A., Minekus, M., Zeijdner, E., Cornelis, C., Schoeters, G., Verstraete, W., Van De Wiele, T., Wragg, J., Rompelberg, C.J.M., Sips, A.J.A.M., Van Wijnen, J.H., 2002. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3326–3334.

Oomen, A.G., Rompelberg, C.J.M., Van de Kamp, E., Pereboom, D.P.K.H., De Zwart, L.L., Sips, A.J.A.M., 2004. Effect of bile type on the bioaccessibility of soil contaminants in an in vitro digestion model. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 183–188. doi:10.1007/s00244-003-2138-2

Orban, J.I., Harmon, B.G., 2000. Effect of bile supplementation on fat digestion in early weaned pig diets. *Purdue University Swine Day* 31, 11–18.

Ounnas, F., 2011. Influence de la matrice sol sur la biodisponibilité orale des Polluants Organiques Persistants chez les ruminants laitiers. Vandoeuve-les-Nancy, INPL.

Ounnas, F., Jurjan, S., Dziurla, M.A., Guiavarc'h, Y., Feidt, C., Rychen, G., 2009. Relative bioavailability of soil-bound polycyclic aromatic hydrocarbons in goats. *Chemosphere* 77, 115–122.

Özkaynak, H., Jianping Xue, Zartarian, V.G., Glen, G., Smith, L., 2011. Modeled Estimates of Soil and Dust Ingestion Rates for Children. *Risk Anal. Int. J.* 31, 592–608. doi:10.1111/j.1539-6924.2010.01524.x

Paul, P., Ghosh, U., 2011. Influence of activated carbon amendment on the accumulation and elimination of PCBs in the earthworm *Eisenia fetida*. *Environ. Pollut.* 159, 3763–3768. doi:10.1016/j.envpol.2011.07.025

Pavlostathis, S.G., Jaglal, K., 1991. Desorptive behavior of trichloroethylene in contaminated soil. *Env. Sci Technol* 25, 274–279. doi:10.1021/es00014a009

Perminova, I.V., Grechishcheva, N.Y., Petrosyan, V.S., 1999. Relationships between Structure and Binding Affinity of Humic Substances for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Relevance of Molecular Descriptors. *Env. Sci Technol* 33, 3781–3787. doi:10.1021/es990056x

Persson, N.J., Gustafsson, Ö., Bucheli, T.D., Ishaq, R., Næs, K., Broman, D., 2005. Distribution of PCNs, PCBs, and other POPs together with soot and other organic matter in the marine environment of the Grenlandsfjords, Norway. *Chemosphere* 60, 274–283. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.12.050

Piatt, J.J., Brusseau, M.L., 1998. Rate-Limited Sorption of Hydrophobic Organic Compounds by Soils with Well-Characterized Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1604–1608. doi:10.1021/es970461t

Pignatello, J.J., 1990a. Slowly reversible sorption of aliphatic halocarbons in soils. I. Formation of residual fractions. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 1107–1115. doi:10.1002/etc.5620090901

Pignatello, J.J., 1990b. Slowly reversible sorption of aliphatic halocarbons in soils. II. Mechanistic aspects. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 1117–1126. doi:10.1002/etc.5620090902

Pignatello, J.J., 1998. Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Adv. Colloid Interface Sci.* 76-77, 445–467. doi:10.1016/S0001-8686(98)00055-4

Pignatello, J.J., 1999. The measurement and interpretation of sorption and desorption rates for organic compounds in soil media. *Adv. Agron.* 69, 1–73.

Pignatello, J.J., Kwon, S., Lu, Y., 2006. Effect of natural organic substances on the surface and adsorptive properties of environmental black carbon (char): attenuation of surface activity by humic and fulvic acids. *Environ. Sci. Technol.* 40, 7757–7763. doi:10.1021/es061307m

Pignatello, J.J., Xing, B.S., 1996. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1–11. doi:10.1021/es940683g

Pikaar, I., Koelmans, A.A., van Noort, P.C.M., 2006. Sorption of organic compounds to activated carbons. Evaluation of isotherm models. *Chemosphere* 65, 2343–2351. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.005

Ping, L., Luo, Y., Wu, L., Qian, W., Song, J., Christie, P., 2006. Phenanthrene adsorption by soils treated with humic substances under different pH and temperature conditions. *Environ. Geochem. Health* 28, 189–195. doi:10.1007/s10653-005-9030-0

PNUE. *Manuel de formation visant la préparation d'un Plan National pour la Gestion Ecologiquement Rationnelle des PCBs et des équipements contaminés aux PCBs dans le cadre de la mise en oeuvre de la Convention de Bâle* [En ligne]. 27 septembre 2002. Disponible sur : < <http://archive.basel.int/pub/manuel%20de%20formation%20content.pdf> > (consulté le 19 septembre 2014)

Pu, X., Carlson, G.P., Lee, L.S., 2003. Oral bioavailability of pentachlorophenol from soils of varying characteristics using a rat model. *J. Toxicol. Environ. Health - Part A* 66, 2001–2013.

Pu, X., Lee, L.S., Galinsky, R.E., Carlson, G.P., 2004. Evaluation of a rat model versus a physiologically based extraction test for assessing phenanthrene bioavailability from soils. *Toxicol. Sci.* 79, 10–17.

Pu, X., Lee, L.S., Galinsky, R.E., Carlson, G.P., 2006. Bioavailability of 2,3',4,4',5-pentachlorobiphenyl (PCB118) and 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl (PCB52) from soils using a rat model and a physiologically based extraction test. *Toxicology* 217, 14–21.

Rabache, M., Billaud, C., Adrian, J., 1985. Evolution du benzo (a) pyrène dans le tube digestif. I: Sa disparition. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 55, 113–117.

Raber, B., Kögel-Knabner, I., Stein, C., Klem, D., 1998. Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons to dissolved organic matter from different soils. *Chemosphere* 36, 79–97. doi:10.1016/S0045-6535(97)00352-4

Ramesh, A., Inyang, F., Hood, D.B., Archibong, A.E., Knuckles, M.E., Nyanda, A.M., 2001. Metabolism, bioavailability, and toxicokinetics of Benzo(α)pyrene in F-344 rats following oral administration. *Exp. Toxicol. Pathol.* 53, 275–290. doi:10.1078/0940-2993-00192

Reeves, W.R., McDonald, T.J., Bordelon, N.R., George, S.E., Donnelly, K.C., 2001. Impacts of aging on in vivo and in vitro measurements of soil-bound polycyclic aromatic hydrocarbon availability. *Environ. Sci. Technol.* 35, 1637–1643.

Robertson, B.K., Alexander, M., 1998. Sequestration of DDT and dieldrin in soil: Disappearance of acute toxicity but not the compounds. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 1034–1038. doi:10.1002/etc.5620170608

Rockne, K.J., Shor, L.M., Young, L.Y., Taghon, G.L., Kosson, D.S., 2002. Distributed Sequestration and Release of PAHs in Weathered Sediment: The Role of Sediment Structure and Organic Carbon Properties. *Environ. Sci. Technol.* 36, 2636–2644. doi:10.1021/es015652h

Safe, S., 1989. Polyhalogenated aromatics: uptake, disposition and metabolism. *Halogenated Biphenyls Terphenyls Naphthalenes Dibenzodioxins Relat. Prod.* 131–159.

Saghir, S.A., Bartels, M.J., Budinsky Jr, R.A., Harris, E.E., Clark, A.J., Staley, J.L., Chai, Y., Davis, J.W., 2007. Effect of organic carbon content, clay type, and aging on the oral bioavailability of hexachlorobenzene in rats. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 2420–2429.

Schantz, S.L., Levin, E.D., Bowman, R.E., Heironimus, M.P., Laughlin, N.K., 1989. Effects of perinatal PCB exposure on discrimination-reversal learning in monkeys. *Neurotoxicol. Teratol.* 11, 243–250.

Schantz, S.L., Widholm, J.J., Rice, D.C., 2003. Effects of PCB Exposure on Neuropsychological Function in Children. *Environ. Health Perspect.* 111, 357. doi:10.1289/ehp.5461

Schlautman, M.A., Morgan, J.J., 1993. Effects of aqueous chemistry on the binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by dissolved humic materials. *Environ. Sci. Technol.* 27, 961–969. doi:10.1021/es00042a020

Schlummer, M., Moser, G.A., McLachlan, M.S., 1998. Digestive tract absorption of PCDD/Fs, PCBs, and HCB in humans: Mass balances and mechanistic considerations. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 152, 128–137. doi:10.1006/taap.1998.8487

Schuhmacher, M., Domingo, J.L., Kiviranta, H., Vartiainen, T., 2004. Monitoring dioxins and furans in a population living near a hazardous waste incinerator: Levels in breast milk. *Chemosphere* 57, 43–49.

Sharma, B., Gardner, K.H., Melton, J., Hawkins, A., Tracey, G., 2009. Evaluation of activated carbon as a reactive cap sorbent for sequestration of polychlorinated biphenyls in the presence of humic acid. *Environ. Eng. Sci.* 26, 1371–1379. doi:10.1089/ees.2008.0231

Shatalov, V., Ilyin, I., Gusev, A., Rozovskaya, O., Travnikov, O., 2014. Heavy metals and persistent organic pollutants: model assessment of pollution and research activities (Technical report No. 4/2014), Co-operative programme for monitoring and evaluation of the long-range transmissions of air pollutants in Europe. Meteorological Synthesizing Centre-East, Moscow, Russie.

Sheng, Y., Peng, Z., Wei, Z., LiuYan, Y., Lin, X., LiJuan, J., XiaoLin, W., Jun, W., Ye, Y., 2010. Effects of humic acids and microorganisms on decabromodiphenyl ether, 4,4'-dibromodiphenyl ether and anthracene transportation in soil. *Sci. China-Chem.* 53, 950–958. doi:10.1007/s11426-010-0126-8

Shi, X., Ji, L., Zhu, D., 2010. Investigating roles of organic and inorganic soil components in sorption of polar and nonpolar aromatic compounds. *Environ. Pollut.* 158, 319–324. doi:10.1016/j.envpol.2009.06.036

Sipes, I.G., Slocumb, M.L., Perry, D.F., Carter, D.E., 1982. 2,4,5,2',4',5'-Hexachlorobiphenyl: Distribution, metabolism, and excretion in the dog and the monkey. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 65, 264–272. doi:10.1016/0041-008X(82)90009-6

Siracusa, P.A., Somasundaran, P., 1987. Mechanism of hysteresis in sulfonate/kaolinite adsorption/desorption systems: Chromatographic separation of isomers. *J. Colloid Interface Sci.* 120, 100–109. doi:10.1016/0021-9797(87)90327-4

Soares, M., Lopez-Bote, C.J., 2002. Effects of dietary lecithin and fat unsaturation on nutrient utilisation in weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95, 169–177. doi:10.1016/S0377-8401(01)00324-8

Song, J., Peng, P., Huang, W., 2002. Black Carbon and Kerogen in Soils and Sediments. 1. Quantification and Characterization. *Environ. Sci. Technol.* 36, 3960–3967. doi:10.1021/es025502m

Stroo, H.F., Jensen, R., Loehr, R.C., Nakles, D.V., Fairbrother, A., Liban, C.B., 2000. Environmentally acceptable endpoints for PAHs at a manufactured gas plant site. *Environ. Sci. Technol.* 34, 3831–3836.

Stroo, H.F., Nakles, D.V., Kreitinger, J.P., Loehr, R.C., Hawthorne, S.B., Luthy, R.G., Holman, H.Y., LaPierre, A., 2005. Improving risk assessments for manufactured gas plant soils by measuring PAH availability. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 1, 259–266.

Sutton, R., Sposito, G., 2005. Molecular structure in soil humic substances: The new view. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9009–9015. doi:10.1021/es050778q

Takagi, Y., Otake, T., Kataoka, M., Murata, Y., Aburada, S., Akasaka, S., Hashimoto, K., Uda, H., Kitaura, T., 1976. Studies on the transfer and distribution of [¹⁴C] polychlorinated biphenyls from maternal to fetal and suckling rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 38, 549–558.

Tanabe, S., Nakagawa, Y., Tatsukawa, R., 1981. Absorption efficiency and biological half-life of individual chlorobiphenyls in rats treated with Kanechlor products. *Agric. Biol. Chem.* 45, 717–726.

Tang, J., Carroquino, M.J., Robertson, B.K., Alexander, M., 1998. Combined Effect of Sequestration and Bioremediation in Reducing the Bioavailability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3586–3590. doi:10.1021/es9803512

Tang, X.Y., Tang, L., Zhu, Y.G., Xing, B.S., Duan, J., Zheng, M.H., 2006. Assessment of the bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils from Beijing using an in vitro test. *Environ. Pollut.* 140, 279–285.

Thomson, A., Stoessell, R.K., 1985. Nature of Secondary Porosity Created by Dissolution of Aluminum Silicates. *Am Assoc Pet Geol Bull U. S.* 69:2.

Tričković, J., Ivančev-Tumbas, I., Dalmacija, B., Nikolić, A., Trifunović, S., 2007. Pentachlorobenzene sorption onto sediment organic matter. *Org. Geochem.* 38, 1757–1769. doi:10.1016/j.orggeochem.2007.05.003

Urabe, H., Asahi, M., 1985. Past and current dermatological status of yusho patients. *Environ. Health Perspect.* 59, 11.

U.S. EPA, 2007a. Pilot Survey of Levels of Polychlorinated Dibenzo-P-Dioxins (PCDDs), Polychlorinated Dibenzofurans (PCDFs), Polychlorinated Biphenyls (PCB) and Mercury in Rural Soils of the U.S. US Environ. Prot. Agency Wash. DC.

U.S. EPA, 2007b. Guidance for evaluating the oral bioavailability of metals in soils for use in human health risk assessment (Guidance and technical report No. OSWER 9285.7-80), Superfund. Office of Solid Waste and Emergency Response - U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

U.S. EPA, 2007c. Science Advisory Board (SAB) Review of the Estimation Programs Interface Suite (EPI Suite™) (Final report No. EPA-SAB-07-11), Science Advisory Board. Office of the administrator science advisory board, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

U.S. EPA, 2007d. Estimation of relative bioavailability of lead in soil and soil-like materials using in vivo and in vitro methods (Guidance and technical report No. OSWER 9285.7-77), Superfund. Office of Solid Waste and Emergency Response - U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

U.S. EPA, 2011. Exposure factors handbook 2011 edition (Final) (No. EPA/600/R-09/052F). U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.

Van den Berg, M., Birnbaum, L.S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A.,

Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterson, R.E., 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol. Sci.* 93, 223–241.

Van de Wiel, J.A.G., Fijneman, P.H.S., Duijf, C.M.P., Anzion, R.B.M., Theuws, J.L.G., Bos, R.P., 1993. Excretion of benzo[a]pyrene and metabolites in urine and feces of rats: influence of route of administration, sex and long-term ethanol treatment. *Toxicology* 80, 103–115. doi:10.1016/0300-483X(93)90174-Q

Van Hecke, A., 1983. Bile secretion in the fistulated pig: effect of the method used for bile reinfusion.

Van Schooten, F.J., Moonen, E.J.C., Van der Wal, L., Levels, P., Kleinjans, J.C.S., 1997. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and their metabolites in blood, feces, and urine of rats orally exposed to PAH contaminated soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33, 317–322.

Vieira, I., Sonnier, M., Cresteil, T., 1996. Developmental expression of CYP2E1 in the human liver. *Eur. J. Biochem.* 238, 476–483. doi:10.1111/j.1432-1033.1996.0476z.x

Vlčková, K., Hofman, J., 2012. A comparison of POPs bioaccumulation in *Eisenia fetida* in natural and artificial soils and the effects of aging. *Environ. Pollut.* 160, 49–56.

Vodicnik, M.J., 1986. The effect of pregnancy and lactation on the disposition of [2, 4, 2', 4'-^{sup}14</sup>C] tetrachlorobiphenyl in the mouse. *Fundam. Appl. Toxicol.* 6, 53–61.

Weber Jr., W.J., LeBoeuf, E.J., Young, T.M., Huang, W., 2001. Contaminant interactions with geosorbent organic matter: insights drawn from polymer sciences. *Water Res.* 35, 853–868. doi:10.1016/S0043-1354(00)00339-0

Weis, C., Lavelle, J., 1991. *Characteristics to Consider When Choosing an Animal-Model for the Study.* Science and Technology Letters, Northwood.

Wennig R. *Histoire des catastrophes environnementales d'origine chimique* [En ligne]. 2008. Disponible sur : < <http://www.em-consulte.com/article/184778/histoire-des-catastrophes-environnementales-d-orig> > (consulté le 15 octobre 2014)

West, C.E., Horton, B.J., 1976. Transfer of polycyclic hydrocarbons from diet to milk in rats, rabbits and sheep. *Life Sci.* 19, 1543–1551.

White, J.C., Kelsey, J.W., Hatzinger, P.B., Alexander, M., 1997. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 2040–2045. doi:10.1002/etc.5620161008

White, J., Hunter, M., Nam, K., Pignatello, J., Alexander, M., 1999. Correlation between biological and physical availabilities of phenanthrene in soils and soil humin in aging experiments. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 1720–1727. doi:10.1897/1551-5028(1999)018<1720:CBBAPA>2.3.CO;2

WHO, W.H.O. (Europe):, 2003. Health risks of persistent organic pollutants from long-range transboundary air pollution. Joint Who/Convention Task Force on the health aspects of air pollution.

Wilson, F.A., Dietschy, J.M., 1974. The intestinal unstirred layer: Its surface area and effect on active transport kinetics. *Biochim Biophys Acta* 363, 112–126. doi:10.1016/0005-2736(74)90010-8

Wittsiepe, J., Erenkämper, B., Welge, P., Hack, A., Wilhelm, M., 2007. Bioavailability of PCDD/F from contaminated soil in young Goettingen minipigs. *Chemosphere* 67, S355–S364. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.129

Wostmann, B.S., 1996. Germfree and Gnotobiotic Animal Models: Background and Applications. CRC Press.

Wyss, P.A., Mühlebach, S., Bickel, M.H., 1982. Pharmacokinetics of 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl (6-CB) in rats with decreasing adipose tissue mass. I. Effects of restricting food intake two weeks after administration of 6-CB. *Drug Metab. Dispos.* 10, 657–661.

Xing, B., Pignatello, J., 1997. Dual-mode sorption of low-polarity compounds in glassy poly(vinyl chloride) and soil organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 31, 792–799. doi:10.1021/es960481f

Xing, B., Pignatello, J.J., 1996. Time-dependent isotherm shape of organic compounds in soil organic matter: Implications for sorption mechanism. *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 1282–1288. doi:10.1002/etc.5620150805

Yamazaki, H., Kakiuchi, Y., 1989. The uptake and distribution of benzo (a) pyrene in rat after continuous oral administration. *Toxicol. Environ. Chem.* 24, 95–104.

Yang, Y., Ratté, D., Smets, B.F., Pignatello, J.J., Grasso, D., 2001. Mobilization of soil organic matter by complexing agents and implications for polycyclic aromatic hydrocarbon desorption. *Chemosphere* 43, 1013–1021.

Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Tao, S., 2010. Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. *Environ. Pollut.* 158, 2170–2174. doi:0.1016/j.envpol.2010.02.019

Yan, M., Korshin, G., Wang, D., Cai, Z., 2012. Characterization of dissolved organic matter using high-performance liquid chromatography (HPLC)–size exclusion chromatography (SEC) with a multiple wavelength absorbance detector. *Chemosphere* 87, 879–885. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.01.029

Zawadzki, M.E., Harel, Y., Adamson, A.W., 1987. Irreversible adsorption from solution. 2. Barium dinonylnaphthalenesulfonate on anatase. *Langmuir* 3, 363–368. doi:10.1021/la00075a015

Zimmerman, J.R., Ghosh, U., Millward, R.N., Bridges, T.S., Luthy, R.G., 2004. Addition of carbon sorbents to reduce PCB and PAH bioavailability in marine sediments: Physicochemical tests. *Environ. Sci. Technol.* 38, 5458–5464.

Ziprin, R.L., Elissalde, M.H., Clark, D.E., Wilson, R.D., 1980. Absorption of polychlorinated biphenyl by the ovine lymphatic system. *Vet. Hum. Toxicol.* 22, 305–308

RÉSUMÉ

Les polychlorobiphényles (PCB) et notamment les congénères les plus présents dans les sites et sols pollués, les PCB non dioxin like, constituent un danger sanitaire potentiel. Le risque associé est exacerbé chez le jeune enfant (6 mois à 3 ans) du fait, notamment, de son comportement exploratoire qui, de plus, a lieu durant une période critique de la croissance. Dans la démarche actuelle, l'évaluation de l'exposition de l'homme ne tient pas compte de la biodisponibilité des PCB, conditionnant pourtant l'exposition de l'individu. L'objectif principal de cette thèse a été de caractériser l'impact des caractéristiques du sol sur la biodisponibilité relative des PCB. La mesure de la biodisponibilité relative a été réalisée chez le porcelet, modèle physiologique de la digestion de l'enfant.

Les résultats in vivo initiaux ont permis de valider les conditions d'emploi de la biodisponibilité relative. La linéarité de la courbe dose-réponse a ainsi été validée ($p < 0,05$) pour le tissu adipeux, principal tissu accumulateur pour les PCB montrant la pertinence d'utiliser ce tissu pour évaluer la rétention des PCB par le sol. Une seconde étude a montré l'impact des caractéristiques de la matière organique des sols sur la biodisponibilité relative des PCB par l'emploi de sols artificiels. Plusieurs matières organiques standardisées ont été testées allant des matières organiques solubles (acides fulviques, acides humiques) à une matière organique à la condensation maximale : le charbon actif, modèle du black carbon. Ces éléments ont permis de montrer de larges variations de biodisponibilité relative allant d'une biodisponibilité relative nulle (charbon actif) à 100% (acide fulvique). Ces données soulignent l'importance de la condensation de la matière organique dans la rétention des PCB durant les processus digestifs. Une troisième approche s'est focalisée sur l'impact de caractéristiques (pH, teneur en carbone organique, argile, black carbon, concentrations en PCB) de sols historiquement contaminés sur la biodisponibilité relative. Ces deux approches ont permis de souligner l'importance du taux de carbone organique et en black carbon sur la rétention des PCB. Malgré les variations importantes en concentrations en black carbon (0,05% - 0,6%) et en carbone organique (1,2 - 1,8%), seuls 3 sols ont révélé une biodisponibilité relative des PCB significativement diminuée. Seuls des niveaux importants en carbone organique (>10%) et en black carbon (>0,3%) ont entraîné une diminution de la biodisponibilité relative. Toutefois la biodisponibilité relative demeure supérieure à 45% quel que soit le sol étudié. Les PCB sont donc peu retenus par le sol. Ainsi, l'exposition aux PCB via l'ingestion de sol semble proportionnelle au produit de la quantité de sol ingérée et de sa concentration en PCB-NDL.

Mot Clés : PCB, Biodisponibilité relative, Évaluation de l'exposition, Sol, POP

ABSTRACT

Polychlorobiphenyls (PCBs) and, overall, non-dioxin-like PCBs (NDL-PCBs) the most abundant congeners in contaminated environmental matrices, constitute a potential health hazard. This risk is even more acute for young children (6 month to 3-year-old) because of their mouthing activities and because this exposure occurs during a critical part of their growth. According to the risk assessment procedure in France, bioavailability is not yet taken into account in the exposure assessment. As this concept drives the effectiveness of exposure of organisms, this parameter could be of great interest. The main objective of this thesis was to characterize the impact of soil's characteristics on the relative bioavailability of PCBs. Relative bioavailability was measured in piglets, an adequate model of children in terms of digestive processes.

The first in vivo study lead to validation of the relative bioavailability conditions of use. Linearity of dose-response relationship has been validated ($p < 0,05$) for adipose tissue, the main tissue in terms of accumulation of PCBs. This result highlights the pertinence of using adipose tissue for assessing retention of PCBs by soil. A second study was realized to demonstrate the impact of the soil organic matter characteristics on the relative bioavailability of PCBs by using artificial soils. Several standardized organic matter were tested ranging from soluble organic matters (fulvic acids, humic acids) to one organic matter highly condensed, activated carbon, a model of black carbon. These elements lead to show important variations in terms of relative bioavailability from 0% (activated carbon) to 100%, maximal relative bioavailability (fulvic acids). These findings highlight the importance of OM condensation in terms of PCB retention during the digestive processes. A third approach was focused on the impact of organic carbon, black carbon and clay content, pH, NDL-PCBs concentrations in historically contaminated soils on bioavailability. This approach tended to show the importance of organic carbon and black carbon content on retention of PCBs. Despite important variations in terms of black carbon content (0.05% - 0.6%) and organic carbon (1.2 - 1.8%), only 3 soils exhibited a significant reduction of relative bioavailability. However, relative bioavailability was found to be higher than 45%, whatever the soil. Thus, PCBs retention in contaminated soils appears rather limited. Finally, exposure to PCBs via soil ingestion appears proportional to the quantity ingested.

Keywords : PCB, Relative bioavailability, Exposure assessment, Soil, POP

