

UNIVERSITE DE NANTES  
FACULTE DE PHARMACIE

**RECHERCHES ECOTOXICOLOGIQUES SUR LES RETARDATEURS  
DE FLAMME BROMES DANS LES ECOSYSTEMES ESTUARIENS  
(ESTUAIRES DE LOIRE ET DE SEINE)**

**THÈSE DE DOCTORAT**

**Ecole Doctorale :** Chimie Biologie  
**Discipline :** Pharmacie  
**Spécialité :** Ecotoxicologie

*présentée et soutenue publiquement par*

**Virginie BRAGIGAND**

Le 13 avril 2005, devant le jury ci-dessous

- Présidente*** Mme MONTAGU Monique, Professeure, Université de Nantes
- Rapporteurs*** Mme VASSEUR Paule, Professeure, Université de Metz  
M. GUERBET Michel, Professeur, Université de Rouen
- Examineurs*** Mme MONTAGU Monique, Professeure, Université de Nantes  
M. ANDRE François, Professeur, École Nationale Vétérinaire de Nantes
- Invités*** Mme LOIZEAU Véronique, Cadre de Recherche, IFREMER Brest  
M. LAROCHE Jean, Maître de Conférences, Institut Universitaire  
Européen de la Mer, Plouzané
- Directrice de thèse :***  
Mme AMIARD-TRIQUET Claude, Directrice de Recherche, Université de Nantes
- Co-directeur de thèse :***  
M. EL HOURCH Mohamed, Docteur, Directeur du Laboratoire Départemental d'Hydrologie  
et d'Hygiène d'Angers

## **LIEUX DE RATTACHEMENT ET DE DÉROULEMENT DE LA THÈSE**

### **LABORATOIRE DE RATTACHEMENT :**

ISOMER (Institut des Substances et des Organismes de la Mer)

SMAB (Substances Marines à Activité Biologique)

GDR1117

2 rue de la Houssinière

BP 92208

44322 NANTES Cedex 3

Responsable du laboratoire : M. Y-F POUCHUS

Directrice de thèse : Mme Claude AMIARD-TRIQUET

### **LABORATOIRE D'ANALYSE :**

Laboratoire Départemental d'Hydrologie et d'Hygiène (LD2H)

18 boulevard Lavoisier

BP 49009 Angers cedex 01

Directeur du laboratoire : M. Mohamed EL HOURCH

Co-directeur de thèse : M. Mohamed EL HOURCH

## **FINANCEMENTS**

Ce travail a été réalisé grâce à une bourse doctorale attribuée par la Région des Pays de la Loire à l'Université de Nantes, laquelle a également apporté un soutien financier et logistique pour les missions. Le Laboratoire Départemental d'Hydrologie et d'Hygiène d'Angers soutenu par le Conseil Général du Maine et Loire, a assuré le financement de tout le travail analytique. Enfin, de nombreux prélèvements ont pu être réalisés grâce au Programme National d'Ecotoxicologie (PNETOX, Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable).

# SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLEAUX.....	12
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	15
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>17</b>
<b>I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>21</b>
I.1. Les estuaires.....	19
I.1.1. Caractéristiques physico-chimiques des estuaires étudiés.....	19
I.1.2. Caractéristiques des zones de peuplement estuariennes.....	21
I.1.2.1. Les principales zones de peuplement.....	21
I.1.2.2. Les vasières.....	22
I.1.3. Le peuplement des estuaires.....	22
I.1.3.1. La végétation.....	23
I.1.3.2. Les invertébrés aquatiques.....	23
I.1.3.3. Le peuplement ichthyologique.....	25
I.1.4. Les réseaux trophiques.....	28
I.1.5. Les apports de polluants.....	31
I.2. Les contaminants étudiés.....	34
I.2.1. Les polluants organiques persistants.....	34
I.2.1.1. Généralités.....	34
I.2.1.2. La biomagnification.....	35
I.2.1.3. Les retardateurs de flamme.....	36
I.2.1.3.i. Généralités sur les retardateurs de flamme.....	37
I.2.1.3.ii. Distribution dans l'environnement.....	49
I.2.1.3.iii. Accumulation et transfert des BFR.....	72
I.2.1.3.iv. Etudes toxicologiques.....	78
I.2.2. Les pesticides.....	83
I.2.2.1. Généralités.....	83
I.2.2.2. Dispersion dans l'environnement.....	83
I.2.2.3. Impacts des pesticides.....	84
I.2.2.4. Les triazines.....	85
I.2.2.4.i. L'atrazine.....	86
I.2.2.4.ii. La simazine.....	89
I.2.2.4.iii. Bioaccumulation.....	92
<b>II MATÉRIELS ET MÉTHODES .....</b>	<b>95</b>
I.1. Historique / état des lieux.....	97
I.1.1. L'analyse des PBB et des PBDE.....	97
I.1.2. L'analyse des triazines.....	99
I.2. Comment améliorer les différentes parties analytiques ?.....	100
I.2.1. Les différentes étapes de traitement des échantillons.....	100
I.2.1.1. La préparation des échantillons.....	100
I.2.1.2. L'extraction des molécules recherchées.....	101
I.2.1.3. La purification.....	101
I.2.1.4. L'analyse.....	102
I.2.2. Mise au point des techniques analytiques.....	102
I.2.2.1. Les échantillons de sédiments.....	102
I.2.2.1.i. La méthode des plans d'expériences.....	102
I.2.2.1.ii. Optimisation de la procédure d'analyse.....	103
I.2.2.1.iii. Protocole définitif de dosage des triazines et des PBDE dans les sédiments.....	106
I.2.2.2. Les échantillons biologiques.....	106
I.2.2.2.i. Extraction.....	107
I.2.2.2.ii. Purification.....	108
I.2.2.3. La Chromatographe en phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse (GC-MS).....	108
I.2.2.3.i. Description.....	109
I.2.2.3.ii. Caractérisation des molécules mères par injection en EI (Impact électronique) sans préparation des ions.....	110

1.2.2.3.iii. Injection des molécules en mode AMD (Développement en mode automatique) Résonnant et Non-Résonnant .....	110
1.2.2.3.iv. Comparaison des spectres en Résonnant et Non-Résonnant .....	111
1.2.2.3.v. Construction de la méthode MS/MS suivant les paramètres étudiés précédemment.....	111
1.2.2.3.vi. Essai d'injection .....	113
1.2.2.4. La Chromatographe en phase Gazeuse Couplée à un Détecteur d'Electrons (GC-ECD).....	115
1.2.2.4.i. Principe .....	115
1.2.2.4.ii. Protocole de dosage .....	116
1.2.3. Vérification des techniques employées .....	117
1.2.3.1. Test de rendement .....	117
1.2.3.2. Test interlaboratoire .....	118
1.2.3.3. Test de blanc .....	119
1.2.3.4. Tests de contrôle qualité .....	120
1.2.3.5. Test de répétabilité de la mesure .....	120
1.3. Stratégie d'échantillonnage.....	121
1.3.1. Lieux de prélèvements .....	121
1.3.2. Echantillonnage .....	123
1.3.3. Représentativité du nombre d'échantillons de poissons analysés .....	126
1.4. Analyses statistiques .....	127
<b>III TRIAZINES, PBB ET PBDE EN MILIEU ESTUARIEN.....</b>	<b>129</b>
<b>REMARQUE :</b> .....	<b>130</b>
1.1. Présence de triazines et de PBB dans les estuaires étudiés .....	132
1.1.1. Présence des triazines dans les échantillons analysés .....	132
1.1.2. Les PBB dans les échantillons analysés.....	132
1.2. Contamination des sédiments et des invertébrés endogés par les PBDE .....	133
1.2.1. Sédiments.....	133
1.2.2. Bivalves et polychètes intrasédimentaires .....	135
1.2.2.1. Bivalves .....	135
1.2.2.2. Polychètes .....	138
1.2.3. Relation sédiment/organisme .....	139
1.3. Bioaccumulation des PBDE dans les organismes présents dans la colonne d'eau .....	140
1.3.1. Contamination des espèces étudiées .....	140
1.3.2. Comparaison des concentrations en PCB et en PBDE.....	144
1.3.3. Facteurs influençant la bioaccumulation.....	145
1.3.3.1. Relation entre le poids ou la taille des poissons et leur degré de contamination par les PBDE.....	145
1.3.3.2. L'organotropisme.....	149
1.4. Biomagnification des PBDE dans les chaînes alimentaires .....	151
1.4.1. Relation entre la concentration en contaminants et le taux de lipides des organismes .....	151
1.4.2. La biomagnification .....	153
1.4.3. Modélisation mathématique.....	156
1.4.3.1. Modélisation de PBDE 47 pour la Seine.....	157
1.4.3.2. Modélisation du BDE-47 pour la Loire.....	158
1.4.3.3. Comparaison des deux modèles : .....	160
1.4.3.3.i. Comparaison de l'influence du taux de Lipides : .....	160
1.4.3.3.ii. Comparaison de l'impact des Espèces communes.....	161
1.4.3.3.iii. Visualisation de l'ajustement par les deux modèles .....	161
1.4.4. Modélisation Biologique.....	163
1.4.4.1. Présentation du modèle générique : .....	163
1.4.4.2. Les variables physico-chimiques du modèle.....	165
1.4.4.3. Le modèle appliqué aux différents organismes d'une chaîne alimentaire .....	167
1.4.4.3.i. Le poids des organismes (W).....	167
1.4.4.3.ii. Le taux de respiration (R).....	168
1.4.4.3.iii. Le taux de nutrition (N).....	169
1.4.4.3.iv. Taux d'excrétion (E).....	170
1.4.4.3.v. Taux de croissance (G).....	170
1.4.4.3.vi. Preferendum alimentaire .....	171
1.4.4.3.vii. Biotransformation.....	171
1.4.4.3.viii. Calcul de la concentration .....	172
1.4.4.4. Application du modèle aux PBDE .....	173
1.5. Effets des PBDE sur les organismes .....	175

I.5.1. Influence des contaminants présents dans l'environnement sur le profil génotypique des flets ( <i>P. flesus</i> ) de Seine et de Loire. ....	175
<b>IV DISCUSSION.....</b>	<b>187</b>
I.1. Les niveaux de triazines et de PBB dans l'étude .....	190
I.1.1. Les triazines .....	190
I.1.2. L'absence des PBB dans les échantillons analysés.....	191
I.2. Contamination des estuaires français par les PBDE et comparaison avec les autres sites mondiaux .....	192
I.2.1. Le cas des sédiments.....	192
I.2.2. Le cas du biota.....	194
I.2.3. Comparaison avec les résultats obtenus dans d'autres chaînes alimentaires .....	202
I.3. Etude des profils de congénères.....	206
I.4. Transfert par l'alimentation .....	211
I.5. Conséquences écologiques de la présence de contaminants lipophiles dans l'environnement.....	215
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>225</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>231</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>267</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Le réseau trophique du banc de Pipy situé en amont de l'estuaire de la Loire (Marchand <i>et al.</i> , 1977).....	28
<b>Figure 2 :</b> Le réseau trophique du banc de Bilho situé vers l'aval de l'estuaire de la Loire (Marchand <i>et al.</i> , 1977).....	29
<b>Figure 3 :</b> Le réseau trophique du flet (Costil <i>et al.</i> , 2002).....	30
<b>Figure 4 :</b> Schéma des différentes entrées et sorties de contaminants chez les poissons (d'après Abarnou <i>et al.</i> , 2000).....	36
<b>Figure 5 :</b> Propriétés physico-chimiques des contaminants agissant sur leur bioaccumulation (d'après Norstrom et Letcher, 1996).....	36
<b>Figure 6 :</b> Demande totale (tonnes) par région des trois mélanges techniques de PBDE employés en 1999 (BSEF, 2000).....	39
<b>Figure 7 :</b> Taux de retardateurs de flamme utilisés dans différents secteurs (Pijnenburg <i>et al.</i> , 1995).....	41
<b>Figure 8 :</b> Structure chimique des PBB et des PBDE.....	42
<b>Figure 9 :</b> Mécanisme de formation de PolyBromo DibenzoFuranes (PBDF) et de PolyBromo DibenzoDioxines (PBDD) à partir du DecaBromo DiphenylEther (Bieniek <i>et al.</i> , 1989).....	45
<b>Figure 10 :</b> Concentrations de différents BDE avant et après recyclage (Riess <i>et al.</i> , 2000).....	48
<b>Figure 11 :</b> Présence de congénères de PBDE avant et après incinération d'un boîtier plastique de téléviseur (d'après Sakai <i>et al.</i> , 2001). <i>N.B. : Un RUN correspond à l'incinération d'un échantillon.</i> .....	49
<b>Figure 12 :</b> Quelques PBDE produits naturellement par les éponges <i>Dysidea herbacea</i> (1, 2, 6), <i>Dysidea chlorea</i> (3) et <i>Phyllospongia foliascens</i> (7, 8, 9) (Carté & Faulkner, 1981).....	50
<b>Figure 13 :</b> Concentrations moyennes en PBDE dans le sang de travailleurs suédois selon leur lieu de travail (Sjödén <i>et al.</i> , 1999b). <i>Cleaners : techniciens de surface dans un hôpital ; Clerks : employés de bureau ; Workers at electronics dismantling : employés d'une usine de démantèlement de matériel informatique.</i> .....	71
<b>Figure 14 :</b> Moyennes des concentrations de différents congénères de PBDE chez trois espèces de poissons (Burreau <i>et al.</i> , 1999).....	73
<b>Figure 15 :</b> Concentrations du BDE-47 à différents niveaux trophiques de la chaîne alimentaire de la mer Baltique (Darnerud <i>et al.</i> , 2001 ; d'après les données de Haglund <i>et al.</i> , 1997 & Sellström <i>et al.</i> , 1993).....	74
<b>Figure 16 :</b> Evolution des concentrations de PBDE dans les sédiments de la mer Baltique de 1939 à 1989 (Nylund <i>et al.</i> , 1992).....	76
<b>Figure 17 :</b> Concentration en PBDE (total de 8 congénères) dans des échantillons de lait maternel prélevés à différentes périodes en Suède (Norén & Meironyté, 1998, 2000).....	77
<b>Figure 18 :</b> Structure chimique des PCB.....	80
<b>Figure 19 :</b> Structure chimique du BDE-100 et d'une hormone thyroïde : la thyroxine (T4).....	81
<b>Figure 20 :</b> Mécanismes de transferts et de transformations des pesticides dans les milieux (CPP, 2002).....	84
<b>Figure 21 :</b> Structure chimique de l'atrazine.....	87
<b>Figure 22 :</b> Structure chimique de la simazine.....	89
<b>Figure 23 :</b> Chromatogrammes des différents composés obtenus par GC-MS/MS. A) Triazines, B) PBDE et PBB.....	114
<b>Figure 24 :</b> Chromatogramme obtenu par GC-ECD.....	117
<b>Figure 25 :</b> Chromatogramme obtenu lors du passage d'un blanc analytique en GC-MS/MS.....	120
<b>Figure 27 :</b> Remontée du filet à perche <b>Figure 28 :</b> la pêche au guideau.....	126
<b>Figure 29 :</b> Variabilité des concentrations de PBDE dans les muscles de flets. Les moyennes et les écart-types ont été calculés pour un nombre croissant d'individus (2 à 20).....	127
<b>Figure 30 :</b> Variations temporelles et spatiales des concentrations en BDE-47 et en BDE-209 (ng g <sup>-1</sup> , ps) dans les sédiments estuariens.....	134
<b>Figure 31 :</b> Concentrations de PBDE (ng g <sup>-1</sup> lipide) dans les bivalves de Honfleur. BDE-47: moyennes calculées avec les données des 5 prélèvements réalisés entre juillet 2002 et août 2003 pour les scrobiculaires et des 3 prélèvements réalisés entre février 2003 et août 2003 pour les autres bivalves. Pour les autres congénères, les moyennes ont été calculées en prenant en compte les 3 valeurs détectées pour le BDE-28 et les deux valeurs détectées pour le BDE-99.....	137
<b>Figure 32 :</b> Evolution de la concentration en BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , pl) en fonction des mois dans les scrobiculaires de différents sites.....	138

<b>Figure 33 :</b> Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g <sup>-1</sup> , pl) dans les anguilles pêchées entre Angers et Ancenis en 2002 et 2003. ....	142
<b>Figure 34 :</b> Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g <sup>-1</sup> , pl) dans les anguilles pêchées à Montjean sur Loire en 2002 et 2003. ....	143
<b>Figure 35 :</b> Concentrations de PBDE dans les filets de filets de Loire et de Seine versus concentrations de PCB dans les filets des mêmes poissons. ....	145
<b>Figure 36 :</b> Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g <sup>-1</sup> , pf) en fonction du poids (a) et de la taille (b) des filets issus de Loire et de Seine. ....	147
<b>Figure 37 :</b> Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g <sup>-1</sup> , pf) en fonction du poids (a) et de la taille (b) des soles issues de Loire. ....	147
<b>Figure 38 :</b> Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g <sup>-1</sup> , pf) en fonction du poids (g) et de la taille (cm) des anguilles issues de Seine (a et c) et de Loire (b et d). ....	148
<b>Figure 39 :</b> Ratio d'accumulation de six congénères dans le foie de différentes espèces de poissons. ....	150
<b>Figure 40 :</b> Moyennes et écart-types des différents pourcentages de lipides observés dans les différentes espèces de Loire et de Seine étudiées. ....	152
<b>Figure 41a et b :</b> Evolution des concentrations de BDE-47 en ng g <sup>-1</sup> de poids de lipides (pl III-11a) et en ng g <sup>-1</sup> de poids frais (pf III-11b) dans différentes espèces de la chaîne alimentaire de l'estuaire de la Loire. ■ producteurs primaires, ■ consommateurs primaires, ■ omnivores, □ nécrophages et supercarnivores. ....	154
<b>Figure 42a et b :</b> Evolution des concentrations de BDE-47 en ng g <sup>-1</sup> de poids de lipides (pl III-12a) et en ng g <sup>-1</sup> de poids frais (pf III-12b) dans différentes espèces de la chaîne alimentaire de l'estuaire de la Seine. ■ consommateurs primaires, ■ omnivores, □ nécrophages et supercarnivores. ....	155
<b>Figure 43 :</b> Comparaison de l'évolution de la concentration en (BDE-47 ng g <sup>-1</sup> , pf) calculée par le modèle en fonction du pourcentage de lipides pour la Seine et la Loire. ....	160
<b>Figure 44 a et b :</b> Comparaison des valeurs obtenues par le modèle (—) aux valeurs obtenues dans l'étude (symboles). ....	162
<b>Figure 45 a, b, c et d :</b> Concentrations de BDE-47 et BDE-99 mesurées dans différentes espèces de Loire (a et b) et de Seine (c et d) en comparaison avec les valeurs prédites par le modèle avec et sans biotransformation. ....	174
<b>Figure 46 :</b> Analyse en Composantes Principales sur les filets de la Loire ; 100-100 : individu homozygote présentant 2 fois l'allèle 100; 85-100 : individu hétérozygote à 2 allèles différents : 85 & 100. ....	178
<b>Figure 47 (a et b):</b> Analyse en Composante Principale pour les filets de l'estuaire de la Seine. ....	180
<b>Figure 48 :</b> Profils de PBDE observés dans les échantillons de Seine (S) et de Loire (L) et dans les deux mélanges techniques de PBDE. Pour les poissons, les profils ont été obtenus à partir des concentrations de PBDE mesurées dans les muscles. ....	208
<b>Figure 49 :</b> Profils de PBDE observés dans les échantillons de muscles et de foies de soles, filets et anguilles et dans les deux mélanges techniques de PBDE. ....	209
<b>Figure 50 :</b> Flux d'énergie à travers un organisme (issu et adapté de Van der Veer <i>et al.</i> , 2001). 1 : ingestion, 2 : défécation, 3 : assimilation, 4 : passage de l'énergie dans les réserves, 5 : mobilisation de l'énergie à partir des réserves, 6 : utilisation, 7 : croissance, 8 : maintenance, 9 : maintenance de la maturation, 10 : maturation, 11 : reproduction. ....	216

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I :</b> Quelques données sur les estuaires étudiés. ....	20
<b>Tableau II :</b> Sources de retardateurs de flammes dans la vie quotidienne - Tableau réalisé d'après la "Swedish Environmental Protection Agency" (1998) et la "Norwegian Pollution Control Authority" (2001).....	40
<b>Tableau III :</b> Données physico-chimiques sur les produits commerciaux de PBB (WHO/ICPS, 1994a et b ; Pijnenburg <i>et al.</i> , 1995 ; ATSDR, 2002). HxBB : HexaBromoBiphényle ; OcBB : OctaBromoBiphényle ; NoBB : NonaBromoBiphényle ; DeBB : DecaBromoBiphényle.....	42
<b>Tableau IV :</b> Données physico-chimiques sur les produits commerciaux de PBDE (WHO/ICPS, 1994a et b ; Pijnenburg <i>et al.</i> , 1995 ; ATSDR, 2002).....	43
<b>Tableau V :</b> Demi-vie du DeBDE soumis à la lampe UV et à la lumière naturelle dans différentes matrices (d'après Sellström <i>et al.</i> , 1998b). <i>NC : Non Communiqué.</i> ....	46
<b>Tableau VI :</b> Demi-vie des PBDE exposés aux UV dans un mélange méthanol : eau (Eriksson <i>et al.</i> , 2001). ....	47
<b>Tableau VII :</b> Concentrations de PBDE ( $\text{pg m}^{-3}$ ) mesurées dans l'air de différents sites mondiaux.....	51
<b>Tableau VIII :</b> Concentrations de PBDE ( $\text{ng g}^{-1}$ ) mesurées dans les boues d'épuration de différents sites mondiaux. ps : concentration exprimée par rapport au poids sec, pf : concentration exprimée par rapport poids frais.....	53
<b>Tableau IX :</b> Concentrations de PBDE ( $\text{ng g}^{-1}$ ) mesurées dans les sédiments de rivières, d'estuaires et marins de différents sites mondiaux. ps : concentrations exprimées en poids sec. ....	54
<b>Tableau X :</b> Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des organismes terrestres. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.....	59
<b>Tableau XI :</b> Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des organismes provenant d'écosystèmes d'eau douce. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, ps : concentration exprimée en fonction du poids sec, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.....	61
<b>Tableau XII :</b> Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des organismes provenant d'écosystèmes marins. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, ps : concentration exprimée en fonction du poids sec, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.....	65
<b>Tableau XIII :</b> Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des mammifères marins. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.....	70
<b>Tableau XIV :</b> Tableau récapitulatif des gradients de concentrations de PBDE observés dans différentes zones d'Europe.....	75
<b>Tableau XV :</b> Plan d'expérience 1 faisant varier les volumes de solvants (ml) et rendements (%) obtenus pour chaque essai.....	104
<b>Tableau XVI :</b> Plan d'expérience 2 faisant varier la température ( $^{\circ}\text{C}$ ) et le temps d'extraction (min) et rendements (%)obtenus pour chaque essai.....	105
<b>Tableau XVII :</b> Description du programme d'extraction.....	106
<b>Tableau XVIII:</b> Tableau de préparation des ions pour la méthode MS/MS.....	112
<b>Tableau XIX:</b> Programmation des segments du chromatogramme pour la méthode MS/MS.....	112
<b>Tableau XX :</b> Pics les plus représentatifs de chaque composé permettant le retraitement des données. ....	113
<b>Tableau XXI :</b> Concentrations certifiées de différents PBDE dans un matériau de référence certifié (WMF-01, Wellington Laboratories, en $\text{ng g}^{-1}$ , poids sec), concentrations obtenues au laboratoire et rendement obtenu pour chaque molécule.....	117
<b>Tableau XXII :</b> Concentrations de différents congénères de PBDE analysés en parallèle avec le LABERCA dans des échantillons de muscles d'anguilles de Loire (AL1-3), de flets de Loire (FL1-3) et de flets de Seine (FS1-3).....	119
<b>Tableau XXIII :</b> Etude de répétabilité de la mesure du BDE-47 dans des échantillons poolés de crevettes (n=2).....	120
<b>Tableau XXIV :</b> Tableau récapitulatif des lieux, dates et modes de prélèvement des sédiments et des organismes.....	123
<b>Tableau XXV :</b> Concentrations en triazines obtenues dans les sédiments des différents sites ( $\text{ng g}^{-1}$ , ps). ....	132

<b>Tableau XXVI :</b> Concentrations en PBDE dans les bivalves ( <i>Scrobicularia plana</i> , <i>Mya arenaria</i> , <i>Macoma balthica</i> , <i>Mytilus edulis</i> et <i>Cerastoderma edule</i> ) (ng g <sup>-1</sup> poids de lipides (pl)). Les autres congénères avaient des concentrations inférieures à 2 ng g <sup>-1</sup> lipides. ....	136
<b>Tableau XXVII :</b> Concentrations en PBDE dans les polychètes ( <i>Nereis diversicolor</i> ) (ng g <sup>-1</sup> poids de lipides). Les autres congénères avaient des concentrations inférieures à 2 ng g <sup>-1</sup> lipides. ....	139
<b>Tableau XXVIII :</b> Relations entre les concentrations en BDE-47 dans les sédiments et les concentrations en BDE-47 dans les polychètes ( <i>Nereis diversicolor</i> ) et les scrobiculaires ( <i>Scrobicularia plana</i> ). a : pente, b : ordonnée à l'origine, R <sup>2</sup> : coefficient de détermination coefficient. - : La corrélation n'est pas significative, + : La corrélation est significative à 95%, ++ : La corrélation est significative à 99%. ....	139
<b>Tableau XXIX :</b> Concentrations de PBDE minimales et maximales (ng g <sup>-1</sup> lipides) dans les organismes originaires de Loire et de Seine. ....	141
<b>Tableau XXX :</b> Concentrations moyennes en PBDE totaux (ng g <sup>-1</sup> , pl) dans les filets et dans les foies de soles, de filets et d'anguilles. ....	149
<b>Tableau XXXI :</b> Relations entre le pourcentage de lipides et la concentration en BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , pf) dans les polychètes et les scrobiculaires ( <i>N. diversicolor</i> et <i>S. plana</i> ) et relations entre le pourcentage de lipides et la concentration totale en PBDE (ng g <sup>-1</sup> , pf) dans les autres organismes. a : pente, b : ordonnée à l'origine, R <sup>2</sup> : coefficient de détermination coefficient. - : La corrélation n'est pas significative, + : La corrélation est significative à 95%, ++ : La corrélation est significative à 99%. ....	152
<b>Tableau XXXII :</b> Analyse de la variance pour les résultats de Seine. ....	157
<b>Tableau XXXIII :</b> Estimation de la constante et des coefficients à appliquer à chaque variable. Le tableau affiche les intervalles de confiance à 95.0% pour les coefficients du modèle. B-S : Scrobiculaires, B-I : Mies, B-T : Tellines, B-M : Moules, B-C : Coques, Ner : Nereis, C-B : crevettes blanches. ....	157
<b>Tableau XXXIV :</b> Analyse de la variance pour les résultats de Loire. ....	158
<b>Tableau XXXV :</b> Estimation de la constante et des coefficients à appliquer à chaque variable. Le tableau affiche les intervalles de confiance à 95.0% pour les coefficients du modèle. Alg : Algues, Zoo : Zooplancton, B-S : Scrobiculaires, Ner : Nereis, C-G : Crevettes grises, C-B : Crevettes blanches, C-R : Crevettes roses, Sle : Soles, Flt : Filets. ....	159
<b>Tableau XXXVI :</b> Coefficients appliqués aux constantes et aux pourcentages de lipides dans les modèles de Seine et de Loire. ....	160
<b>Tableau XXXVII :</b> Coefficients appliqués aux constantes et aux différents organismes dans les modèles de Seine et de Loire. ....	161
<b>Tableau XXXVIII :</b> Liste des termes utilisés dans les équations générales de bioaccumulation. ....	165
<b>Tableau XXXIX :</b> Liste des variables utilisées dans le modèle (d'après Le Gall <i>et al.</i> , 2003). ....	166
<b>Tableau XL :</b> Equations de la concentration de PCB dans le phytoplancton en fonction des log Kow. ....	167
<b>Tableau XLI :</b> Poids moyens des organismes employés dans le modèle. ....	168
<b>Tableau XLII :</b> Equations décrivant les taux de respiration pour les différents organismes du modèle. [Chla] : concentration en chlorophylle a dans l'eau (mg l <sup>-1</sup> ), T : température en °C, [Zoo] : Biomasse zooplanctonique en mg l <sup>-1</sup> , [O <sub>2</sub> ] : Concentration en oxygène dissous dans l'eau (mg l <sup>-1</sup> ), W <sub>x</sub> : Poids de l'organisme i en mg pour les crevettes et en g pour les filets. Afin d'obtenir des valeurs en l.g <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> , le résultat des équations a été pondéré par le taux d'oxygène dissous, le poids des organismes et le temps. ....	168
<b>Tableau XLIII :</b> Equations employées pour calculer les taux de nutrition dans le modèle. [Chla] : concentration en chlorophylle a dans l'eau (µg l <sup>-1</sup> ), T : température en °C, [Zoo] : Biomasse zooplanctonique en mg l <sup>-1</sup> , [Phyto] : Biomasse phytoplanctonique en mg l <sup>-1</sup> , [POM] : Concentration de matières organiques particulaires dans l'eau en mg l <sup>-1</sup> , W <sub>x</sub> : Poids de l'organisme i en g. Afin d'obtenir des valeurs en j <sup>-1</sup> , le résultat des équations a été pondéré par le poids des organismes et le temps. ....	169
<b>Tableau XLIV :</b> Equations employées pour calculer les taux d'excrétions des différents organismes. [Chla] : concentration en chlorophylle a dans l'eau (µg l <sup>-1</sup> ), [Zoo] : Biomasse zooplanctonique en mg l <sup>-1</sup> , W <sub>x</sub> : Poids de l'organisme i en g, T : température en °C et N <sub>5</sub> : Taux de nutrition du flet. Afin d'obtenir des valeurs en j <sup>-1</sup> , le résultat des équations a été pondéré par le poids des organismes et le temps. ....	170
<b>Tableau XLV :</b> Valeurs inspirées de la littérature et utilisées dans le modèle comme taux de croissance. ....	171

<b>Tableau XLVI :</b> Concentrations en BDE-47 et en BDE-99 obtenues en Loire et en Seine dans cette étude et par modélisation.....	173
<b>Tableau XLVII :</b> Récapitulatif des locus étudiés, et de leurs fonctions (Weil, 2001).....	177
<b>Tableau XLVIII :</b> Fréquence alléliques dans les deux populations de flets en estuaires..	177
<b>Tableau XLIX :</b> Sélection de concentrations de PBDE dans l'environnement. ps = poids sec ; pl = poids de lipides. ....	193
<b>Tableau L :</b> Valeurs minimales et maximales de BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , pf) observées dans cette étude et dans différents estuaires de l'hémisphère nord. <sup>1</sup> Law <i>et al.</i> , 2003 ; <sup>2</sup> Voorspoels <i>et al.</i> , 2004. ....	203
<b>Tableau LI :</b> Consommation journalière de quelques produits de la mer (g) et apport maximum en PBDE (ng kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ) que la consommation de ces produits représente. <i>Cas 1 : individu consommant principalement des soles ou des flets comme poisson ; cas 2 : individu consommant de façon équilibrée des poissons plats et des anguilles ; cas 3 : individu consommant principalement des anguilles comme poisson.</i> ....	212
<b>Tableau LII :</b> Comparaison des apports de PBDE par l'alimentation dans différentes études. Varié : panier de produits à analyser comprenant généralement de la viande, du poisson, des légumes et des produits laitiers. ....	213

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**ABS** : Acrylonitrile Butadiène Styrene

**ASE** : Accelerated Solvent Extraction : Extraction par solvant accélérée

**BFR(s)** : Brominated Flame Retardant(s) : Retardateur(s) de Flamme Bromé(s)

**BGS** : Brain Growth Spurt : Sursaut de croissance du cerveau.

**BSEF** : Bromine Science and Environmental Forum : Forum de la Science et de l'Environnement du Brome

**CE<sub>50</sub>(x)** : Concentration en substance active efficace pour immobiliser 50% d'un lot d'individus soumis au test pendant une période d'exposition X.

**CL<sub>50</sub> (x)** : Concentration létale en substance active pour 50% d'un lot d'individus de laboratoire soumis au test après une période d'exposition X.

**CPG** : Chromatographie en Phase Gazeuse

**DCM** : Dichlorométhane

**DDT** : DichloroDiphenylTrichloroethane

**DeBB** : DecaBromoBiphenyl

**DeBDE** : DecaBromoDiphenylEther

**DiBB** : DiBromoBiphenyl

**DL<sub>50</sub>** : Dose létale en substance active pour 50% d'un lot d'individus de laboratoire soumis au test après une administration unique de la substance.

**DSE** : Dose sans effet

**DT<sub>50</sub>** : Temps de dissipation de 50% d'une substance.

**ECD** : Détecteur à capture d'électrons

**EI** : impact électronique

**GC** : Chromatographe en phase gazeuse / Chromatographie en phase gazeuse

**HAP** : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique

**HBCD** : HexaBromoCycloDodecane

**HpBDE** : HeptaBromoDiphenylEther

**HxBB** : HexaBromoBiphenyl

**HxBDE** : HexaBromoDiphenylEther

**IFEN** : Institut Français de l'Environnement

**IUPAC** : International Union of Pure and Applied Chemistry

**K<sub>a</sub>** : Constante d'ionisation acide-base dans l'eau à 25°C.

**K<sub>b</sub>** : Constante de basicité ( $pK_b = 14 - pK_a$ )  
**K<sub>ow</sub>** : Coefficient Octanol-Eau  
**m/z** : rapport masse sur charge  
**MRM** : Multiple Reaction Monitoring : Contrôle des réactions composées  
**MS** : Spectromètre de masse  
**NoBB** : NonaBromoBiphenyl  
**NoBDE** : NonaBromoDiphenylEther  
**NOEL** : No Observable Effect Level : Dose maximale sans effet.  
**OcBB** : OctaBromoBiphenyl  
**OcBDE** : OctaBromoDiphenylEther  
**Pa** : Pascal  
**PBB** : PolyBromoBiphenyl  
**PBDD** : PolyBromoDibenzoDioxine  
**PBDE** : PolyBromoDiphenylEther  
**PBDF** : PolyBromoDibenzoFurane  
**PCB** : PolyChlorobiphenyle  
**PCDD** : PolyChloroDibenzoDioxine  
**PCDF** : PolyChloroDibenzoFurane  
**PeBDE** : PentaBromoDiphenylEther  
**pf** : poids frais  
**pl** : poids de lipides  
**POP** : Polluant Organique Persistant  
**ps** : poids sec  
**PSHI** : High-Impact Polystyrène  
**S/N** : rapport signal sur bruit de fond  
**SPE** : Solid Phase Extraction : Extraction sur phase solide  
**T<sub>4</sub>** : Thyroxine  
**TBBPA** : TetraBromoBisphenol A  
**TeBDE(s)** : TetraBromoDiphenylEther(s)  
**TriBDE(s)** : TriBromoDiphenylEther(s)  
**UV(s)** : Ultra Violet(s)  
**V** : volt

# INTRODUCTION



A l'heure actuelle nous sommes entourés d'environ 13 millions de produits et 200 nouvelles substances arrivent chaque année sur le marché. Pourtant, malgré les énormes recherches effectuées avant leur commercialisation, leur introduction dans le milieu naturel révèle de nouvelles facettes jusqu'alors jamais mises en évidence. C'est pourquoi de nombreuses équipes de recherches travaillent constamment sur ces contaminants pour évaluer leurs réels effets et leurs concentrations dans les différents compartiments environnementaux afin de permettre leur retrait du marché quand ils s'avèrent trop dangereux pour l'environnement.

Un milieu est un environnement qui, dans l'esprit de nombreuses personnes, permet de « tamponner » les substances déversées chaque jour par les multiples activités de la vie. Or, lorsqu'un contaminant est introduit dans un milieu, il ne disparaît pas systématiquement. Il peut être stocké, remobilisé et/ou transformé. Ainsi, lorsque ces contaminants sont rejetés dans le milieu aquatique, une majorité est stockée dans les sédiments puis des espèces benthiques vont pouvoir les remobiliser et les ingérer. Ces espèces seront ensuite la proie de prédateurs qui seront eux-même contaminés. Ces polluants vont donc pouvoir se retrouver en bout de chaîne alimentaire dans des poissons, des oiseaux ou dans les êtres humains.

Parmi les nombreux contaminants présents dans l'environnement, deux familles ont attiré notre attention :

- Les triazines (atrazine et simazine) employées pendant de nombreuses années en agriculture et qui sont interdites de vente et d'emploi depuis le 30 juin 2003. Cette interdiction a fait suite aux résultats rendus par l'Institut Français de l'Environnement qui révélait une pollution généralisée des eaux de surface et des eaux souterraines par les triazines (IFEN, 2002). Ces molécules sont souvent détectées dans l'eau mais peu de données existent sur leurs taux dans les sédiments ou les organismes.

- Les retardateurs de flamme bromés, dont les emplois sont larges et variés, font partie de ces molécules indispensables dans la société actuelle puisqu'ils permettent d'éviter les départs de feu dans un monde tout électrique. Employés depuis plus de 30 ans, ce n'est que depuis peu que des études ont montré leur omniprésence dans les écosystèmes et leur toxicité envers de nombreuses espèces (De Wit, 2000). C'est la raison pour laquelle le penta et l'octaBDE ont été interdits depuis peu et que le decaBDE pourrait l'être d'ici 2006. En effet, leurs concentrations n'ont cessé de croître dans l'environnement mondial atteignant même notre propre espèce, non seulement par le biais de l'exposition aux textiles et aux composants électriques et électroniques mais également par la nourriture que nous ingérons. Ces observations indiquent que nous serions à l'aube de ce que les chercheurs appellent le « nouveau problème PCB » (De Wit, 2000).

Afin de mener à bien cette étude, différents estuaires français ont été choisis :

- L'estuaire de la Loire dont les apports de polluants sont plutôt d'origine agricole donc particulièrement soumis aux pesticides.
- L'estuaire de la Seine beaucoup plus anthropisé et soumis à des contaminations de types industrielles et domestiques.
- L'estuaire de l'Authie soumis à de faibles contaminations et choisi comme site témoin.

L'atrazine, la simazine mais également l'atrazine déséthyle (produit de dégradation de l'atrazine) ont été choisis comme représentants la famille des triazines. Les PolyBromoBiphényles (PBB), premiers retardateurs de flamme apparus sur le marché et les PolybromoDiphenylEthers (PBDE), les plus souvent détectés dans l'environnement, ont également été retenus.

L'intérêt de cette étude est donc de :

- Mettre en évidence la présence ou l'absence de ces contaminants à la fois dans les sédiments et dans divers organismes présents dans les estuaires.
- D'étudier leur lieu de stockage dans certains organismes.
- D'observer leur comportement dans les chaînes alimentaires et donc leur capacité à se biomagnifier au fur et à mesure de l'élévation dans les réseaux trophiques.
- De vérifier si les produits de la mer consommés par les êtres humains sont susceptibles de les contaminer à des niveaux engendrant une toxicité.
- D'étudier la toxicité induite par ces produits sur les organismes estuariens.

La contamination des sédiments et des organismes estuariens par les triazines pourra donc être évaluée et un état des lieux de la contamination des estuaires par les retardateurs de flamme bromés pourra être réalisé pour la première fois en France.

I.

**SYNTHÈSE  
BIBLIOGRAPHIQUE**



Afin d'étudier les comportements des contaminants dans les milieux et les organismes, il est important de bien connaître les écosystèmes dans lesquels ils évoluent. En effet, ces molécules sont sensibles aux différents paramètres physico-chimiques de leur environnement. De plus, il est également nécessaire de connaître les organismes vivant dans ces milieux ainsi que leurs réseaux alimentaires afin d'évaluer, au mieux, l'impact des contaminants sur les écosystèmes.

## **I.1. Les estuaires**

Les estuaires (d' "*aestus*" signifiant "marée" en latin) constituent des surfaces d'échanges entre les milieux continentaux et marins. L'estuaire est un milieu où l'hydrologie est assez complexe puisqu'il correspond au point de rencontre entre le fleuve et la mer. Il s'agit d'un milieu très important tant sur le plan écologique qu'économique. En effet, il constitue un milieu reproductif et nourricier permettant à de nombreuses espèces d'intérêt commercial plus ou moins important de se développer (un estuaire est 2 à 15 fois plus productif que l'océan). Ce sont les écosystèmes aquatiques les plus productifs sur Terre (Alongi, 1998). En contraste avec cette richesse biologique, les estuaires, qui concentrent une partie importante de la population mondiale, sont des zones particulièrement exposées aux polluants introduits directement, du fait de l'industrialisation et de l'urbanisation locale, et indirectement, à partir du bassin versant drainé par le fleuve et ses affluents. Cette pression anthropique a différents impacts sur les écosystèmes estuariens : diminution de la qualité des eaux, destruction des habitats et apports de pollutions (Kennish, 2002). Les estuaires sont souvent des zones propices aux aménagements conduisant généralement à une artificialisation du milieu et donc à une perturbation des écosystèmes puisque la surface des estuaires diminue. D'après Guézennec *et al.* (1999) : "le rôle d'interface entre le milieu continental et le milieu marin rend l'estuaire très sensible à toute modification d'ordre naturelle, économique, démographique ou autre en son sein et au sein de son bassin versant : si le bassin versant en amont de l'estuaire est modifié, l'estuaire et tout ce qui se trouve en aval (c'est-à-dire le milieu marin) en subira les conséquences, positives ou négatives. De même si l'estuaire est modifié, tout ce qui se trouve en aval en subira aussi les conséquences..."

### **I.1.1. Caractéristiques physico-chimiques des estuaires étudiés**

L'Authie est un fleuve côtier picard long de 98 km qui sépare le Pas-de-Calais de la Somme (Dobroniak, 2000 ; Dobroniak et Anthony, 2002) (annexe 1). Il prend sa source à

Coigneux (sur le plateau picard) et se jette dans la Manche entre Fort-Mahon et Berck-sur-Mer (Lejeune, 2004).

La Loire est le plus long fleuve de France et son estuaire est le 2<sup>ème</sup> estuaire français (annexe 2). La structuration de celui-ci est très complexe puisqu'il se compose d'un estuaire interne délimité en aval par le Pont de Saint-Nazaire et en amont par la ville de Nantes lui-même partitionné en trois sections : une section endiguée de Nantes au canal de la Martinière (partie la plus artificielle de l'estuaire), une section intermédiaire du Canal de la Martinière à Paimboeuf et d'une zone de transition de Paimboeuf à Saint-Nazaire (Marion, 1997 ; CREOCEAN, 2003) ; et un estuaire externe à partir du pont de Saint-Nazaire jusqu'à la limite de l'Océan (Marion, 1997) (annexe 2).

La Seine naît à 471 m d'altitude, sur le plateau de Langres, dans le Châtillonnais (Côte-d'Or). Son estuaire, 3<sup>ème</sup> estuaire français, est divisé en deux parties : l'estuaire amont allant de Tancarville à Honfleur et l'estuaire aval allant de Honfleur au Havre (annexe 1). De plus, la littérature fait parfois allusion à un estuaire moyen correspondant à la zone de mélange entre eaux douces et eaux salées (Guézennec *et al.*, 1999). Cette zone, siège du bouchon vaseux, s'étendrait de l'aval de Honfleur aux environs du vieux port.

Les données physiques caractérisant ces trois fleuves sont résumées dans le tableau I.

**Tableau I :** Quelques données sur les estuaires étudiés.

<sup>(a)</sup> Dobroniak, 2000 ; Dobroniak et Anthony, 2002 ; Lejeune, 2004 ; <sup>(b)</sup> Cellule de Mesures et de Bilans de la Loire Estuarienne, 2000 ; <sup>(c)</sup> Guérin, 2003.

	AUTHIE <sup>(a)</sup>	LOIRE <sup>(b)</sup>	SEINE <sup>(c)</sup>
<b>Longueur du fleuve (km)</b>	98	1020	776
<b>Débit moyen (m<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>)</b>	4	400	450-500
<b>Surface du bassin versant (km<sup>2</sup>)</b>	984	117 812	78650
<b>Longueur de l'estuaire (km)</b>	≈ 20	60	15
<b>Surface de l'estuaire (km<sup>2</sup>)</b>	22	60	50
<b>Température (°C)</b>	7-18	8-20	4-22

Quatre secteurs biologiques sont habituellement déterminés dans les estuaires selon leur teneur moyenne en sel (Mc Lusky, 1989) : le secteur marin (>30 ‰), le secteur polyhalin (entre 30 ‰ et 18 ‰), le secteur mesohalin (entre 18 ‰ et 5 ‰) et le secteur oligohalin (entre 5 ‰ et 0,5 ‰). Les variations saisonnières peuvent faire considérablement progresser vers l'amont (en été) ou vers l'aval (en hiver) le front de salinité. Les aménagements comme le creusement du chenal ou les extractions de sable repoussent vers l'amont ces zonations

(Migniot, 1997) alors que l'endiguement accélère le courant du fleuve et les déplace vers l'aval (Proniewski, 1985).

Dans les estuaires, il existe une zone où les sédiments sont fortement concentrés sous la forme d'un bouchon vaseux (Avoine, 2002). Les mouvements résiduels de l'eau et la salinité provoquent un piégeage des sédiments fluviaux et une concentration des sédiments en suspension. Il s'ensuit une sédimentation des particules fines et une remontée des sédiments marins vers l'amont de l'estuaire. La décantation du bouchon vaseux engendre la formation de couches de vase très fluides appelées « crème de vase » qui suit les migrations du bouchon vaseux. Lors de forts débits fluviaux, le bouchon se déplace vers l'embouchure et pendant les périodes d'étiage, il se maintient dans l'estuaire (Avoine, 2002). Ce stock sédimentaire explique les fortes turbidités rencontrées en milieu estuarien. Les concentrations de matières en suspension rencontrées au sein du bouchon vaseux sont 100 à 500 fois plus importantes que celles mesurées dans les cours d'eau ou en mer (Romaña, 1994). La masse sédimentaire du bouchon varie entre 20 000 et 400 000 tonnes pour la Seine et 800 000 et 1 000 000 tonnes pour la Loire. Chaque bouchon peut représenter 1 à 3 ans d'apports de sédiments par le fleuve (Romaña, 1994). Lorsque l'étiage est faible, le bouchon vaseux peut s'étendre en Loire sur plus de 40 km mais il se réduit progressivement avec l'augmentation du débit tout en descendant vers l'aval, avec son élimination complète en mer (Marion, 1997). Les activités humaines engendrant, par exemple, une érosion des berges peuvent accentuer ce phénomène.

Tous les estuaires possèdent des zones extrêmement importantes et riches : les zones humides de plus en plus conquises par l'Homme.

## **I.1.2. Caractéristiques des zones de peuplement estuariennes**

### **I.1.2.1. Les principales zones de peuplement**

Les zones humides sont des espaces de transition entre le milieu terrestre et le milieu aquatique et correspondent à des parties des estuaires où la vie est très productive. Malgré l'intrusion de l'homme dans ce milieu, ces zones sont restées des domaines naturels partagés en trois écosystèmes (Avoine, 2002 ; Cellule de Mesures et de Bilans de la Loire estuarienne, 2002 ; Costil, 2002) :

- Les prairies humides, plus ou moins subhalophiles, dont la flore est riche et qui constituent un site de reproduction et d'étape migratoire.

- Les roselières et les prairies sub-halophiles jouant un rôle épurateur et protecteur envers l'avifaune.
- Les vasières, soumises à un double gradient de salinité et d'humidité, qui sont des sites à forte productivité et à l'origine de réseaux alimentaires complexes. Etant donné leur importance dans cette étude, les vasières feront l'objet d'un développement.

#### **I.1.2.2. Les vasières**

Les vasières, appelée également *slikke* (de *slijk* signifiant « boue »), sont des milieux très particuliers correspondants aux hautes mers de morte eau (Avoine, 2002). Il s'agit d'un milieu saumâtre ayant une concentration en sel de l'ordre 10g l<sup>-1</sup>. Ces zones sont indispensables à l'équilibre estuarien car elles constituent le premier maillon de la chaîne alimentaire. Chaque marée apporte des matières en suspension qui se déposent à leurs surfaces et créent une forte activité microbienne ayant un rôle épurateur. Dans les dix premiers centimètres vit une biomasse très importante (parfois plusieurs milliers d'individus au mètre carré) dont se nourrissent crustacés et poissons à marée haute. A marée basse, ce sont les oiseaux limicoles qui viennent à la recherche du zoobenthos. Les vasières jouent donc à ce niveau un rôle de *nourricerie*. De plus, de nombreux crustacés et poissons marins viennent s'y reproduire faisant des vasières des *nurseries* (Avoine, 2002).

Une régression des surfaces des vasières a été observée aussi bien dans l'estuaire de la Seine que dans l'estuaire de la Loire (Desprez et Dupont, 1985 ; Barnaud & Le Bloch, 2001). Ainsi, en raison du développement des implantations industrielles et de la chenalisation de la Seine, la surface des vasières est passée de 13 000 hectares en 1885 et 3 000 hectares en 1985 (Avoine, 1985). La même tendance est visible dans l'estuaire de la Loire où les vasières ont vu leur surface passer de 5423 ha en 1821 à 1950 ha actuellement (Migniot, 1997 ; Le Dréan-Quénechdu *et al.*, 1995).

#### **I.1.3. Le peuplement des estuaires**

Les plantes et les animaux peuplant les estuaires doivent faire face à des amplitudes élevées de variations de paramètres abiotiques déterminant des zonations complexes en perpétuel changement (Marion, 1997).

### **I.1.3.1. La végétation**

La végétation des vasières se limite à des plantes halophytes constituées suivant les zones de : *Vaucheria sp.* (algue), *Spartina townsendi*, *Scirpus maritimus*, *Aster tripolium* et *Atriplex hastata*. Une espèce d'algue est représentée dans cette étude (Avoine, 2002) :



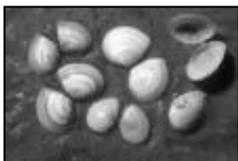
- *Fucus ceranoïdes* (Linné, 1758) : Cette algue, de la classe des phaeophycées, est largement distribuée dans le Nord-Ouest de l'Europe. Elle est caractéristique des estuaires dans lesquels elle vit attachée aux pierres, aux rochers et aux graviers.

### **I.1.3.2. Les invertébrés aquatiques**

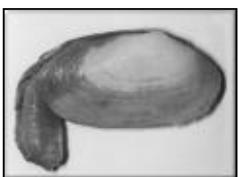
Le zoobenthos est peu diversifié étant donné l'hostilité du milieu (variations de salinité, assèchement périodique du milieu, anoxie du substrat, substrat instable). Dans cette étude, il est représenté par :



- *Scrobicularia plana* (Da Costa, 1778) ou scrobiculaire : mollusque lamelibranche pouvant mesurer jusqu'à 65 mm de long présent dans les vases estuariennes et les sables fins. Il se répartit tout le long des côtes européennes de la Norvège à la Méditerranée ainsi qu'en Afrique de l'Ouest. Il se nourrit de divers dépôts présents sur le substrat grâce à ses siphons extensibles.



- *Macoma balthica* (Linné, 1758) ou telline de la Baltique : mollusque lamelibranche pouvant atteindre 15 mm, vivant en zones intertidales dans le sable fin ou la vase. Seuls les siphons inhalants et exhalants sortent du substrat. A marée basse, ce bivalve est un déposivore de surface (il aspire la vase pour retenir les microorganismes) et à marée haute, il devient suspensivore (il filtre le plancton). De couleur blanche, jaune, rose ou violette avec parfois des bandes de chaque couleur, il se retrouve sur les côtes de la mer Baltique jusqu'à la Péninsule ibérique. Il est souvent confondu avec un autre mollusque bivalve, *Abra alba* dont la coquille est de couleur blanchâtre.



- *Mya arenaria* (Linné, 1758) ou mie des sables : mollusque lamelibranche d'environ 10 cm, fouisseur et foreur dans la partie basse des plages et estuaires, il est de couleur blanche et beige. Il filtre les particules à la surface du sédiment grâce à son siphon. Sa reproduction a

lieu en été. Il est présent dans le Pacifique Nord, la Mer du Nord, la Manche et au nord de l'Atlantique.

- *Cerastoderma edule* (Linné, 1758) ou coque : elle vit dans les eaux les plus superficielles (zone de balancement des marées ou juste en dessous). Elle se rencontre sur toute sorte de fonds meubles mais marque une préférence pour les fonds sablo-vaseux. Son régime alimentaire est de type suspensivore ; elle se nourrit en filtrant l'eau avec ses branchies. Sa durée de vie est de 3-4 ans. Elle est consommée par divers invertébrés benthiques (étoiles de mer, crabes, gastéropodes,...) ainsi que par plusieurs espèces de vertébrés (poissons à marée haute et oiseaux de mer à marée basse). Sa reproduction a lieu au printemps et la ponte de mars à octobre.



- *Mytilus edulis* (Linné, 1758) ou moule bleue : mollusque bivalve filtreur qui vit principalement dans la zone des marées (dans les zones abritées ou sur les côtes rocheuses exposées) mais peut aussi se rencontrer à une plus grande profondeur. Elle est largement distribuée dans l'hémisphère Nord de la mer Baltique à la Méditerranée. Elle se nourrit en filtrant l'eau avec ses branchies (une moule de 7-8 cm filtre en moyenne 1,8 litres par heure) et en y puisant les éléments nutritifs (principalement du phytoplancton) mais parfois aussi des particules plus petites. Sa reproduction a lieu au printemps. A l'âge d'un an, une moule sauvage mesure approximativement 2 cm et peut atteindre 5 à 6 cm en cinq mois dans certaines zones de culture.



- *Hediste (Nereis) diversicolor* (Müller, 1776) : annélide polychète, de 5 à 20 cm de long creusant dans la vase et dans le sable un terrier en forme de U. A marée basse, il tire sa nourriture des matières végétales et animales répandues à la surface du sédiment. A marée haute, le mucus qu'il sécrète lui permet de piéger le phytoplancton qui s'infiltré dans son terrier. C'est une espèce eurytherme et euryhaline, c'est-à-dire adaptée aux grandes variations de température et de salinité. Il se nourrit de restes d'animaux et d'algues. Cet organisme se trouve en Mer Baltique, Mer du Nord, Atlantique et Méditerranée.



- *Crangon crangon* (Linné, 1758) ou crevette grise (Costil *et al.*, 2002) : il s'agit d'un crustacé décapode de la famille des crangonidés. Il fréquente les eaux saumâtres et marines à faible profondeur (< 50 m) et est inféodé aux fonds meubles, sableux et vaseux des baies et estuaires européens. Sa taille maximale dépasse 6 cm pour les mâles et 9 cm pour les femelles. Leur maturité sexuelle est atteinte en quelques mois ou en un an selon la génération dont ils sont issus (printemps ou automne). Il s'agit d'une espèce dont le commerce est très important dans l'estuaire de la Seine.



- *Palaemon elegans* (Rathke, 1837) ou crevette blanche : ce crustacé décapode de la famille des palaemonidés vit près du littoral et nage occasionnellement en pleine mer mais toujours à proximité des algues ou des rochers et jamais à plus de 40 m de profondeur. La taille adulte est comprise entre 5 cm et 9 cm. L'activité a plutôt lieu la nuit. Il se nourrit de petits invertébrés (crustacés, polychètes,...), d'algues mais aussi de déchets animaux.



- *Palaemon serratus* (Pennant, 1777) ou crevette rose, appartenant également à la famille des palaemonidés a une taille adulte moyenne comprise entre 5 et 8 cm mais peut atteindre 11 cm. Elle vit au-dessus des fonds rocheux couverts d'algues dans la zone littorale jusqu'à 10 m de profondeur.



- *Carcinus maenas* (Linné, 1758) ou crabe vert : ce crabe marcheur très actif a une taille moyenne comprise entre 4 et 6 cm de long et 5 et 7 cm de large. Il se rencontre sur des substrats rocheux ou sableux de l'estran à marée basse et jusqu'à une trentaine de mètres de profondeur. Il se nourrit d'annélides, de mollusques, de crustacés mais également d'organismes morts. Sa ponte a lieu tout au long de l'année. Cette espèce s'étend du nord de l'Europe à l'Afrique occidentale et est également présente en Amérique de Nord, en Afrique du Sud et en Australie.

### **I.1.3.3. Le peuplement ichtyologique**

Dans les estuaires, trois sortes d'espèces de poissons peuvent être distinguées (Marchand *et al.*, 1977) :

- Les espèces saisonnières : une partie de leur cycle biologique (croissance) nécessite un séjour dans les eaux saumâtres. Leurs milieux habituels sont plutôt la mer, les rivières et les marais. Parmi ces espèces, on retrouve la sole, le flet, l'éperlan, le mullet,...qui trouvent en estuaires une nourriture abondante.
- Les espèces occasionnelles : leur présence peut être qualifiée d'accidentelle, les grandes marées ou les fortes crues étant responsables de leurs déplacements. Des espèces telles que le hareng, le sprat, la brème ou le sandre font partie de cette catégorie.
- Les espèces migratrices : ces espèces quittent leur lieu de vie habituel et migrent soit vers la mer, soit vers les rivières pour se reproduire. Elles font ces déplacements toujours aux mêmes saisons d'une année à l'autre. Ces espèces comprennent des poissons tels que l'anguille, l'alose, le saumon ou la lamproie.

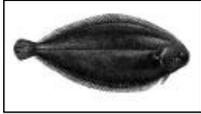
De nombreux poissons d'intérêt commercial sont pêchés régulièrement dans l'estuaire de la Loire. C'est le cas, entre autres, des soles, des bars, des anguilles, des flets et des plies. A l'heure actuelle, la production de pêche liée à l'estuaire de la Seine provient principalement des ports de Honfleur et du Havre et repose majoritairement sur des espèces passant une partie de leur vie dans l'estuaire. Les principales espèces pêchées sont : la sole, le maquereau, la plie et la limande ; mais il faut également prendre en compte la capture des civelles (Costil *et al.*, 2002).

Dans le cadre de cette étude, deux espèces saisonnières (flets et soles) ainsi qu'une espèce migratrice (anguille) ont été choisies (Marchand *et al.*, 1977 ; Bouchardy, 2002 ; Costil *et al.*, 2002):



- Le flet : *Platichthys flesus* (Linné, 1758) : Ce poisson appartient aux Pleuronectidés, il s'agit d'un poisson plat, ovale, possédant en général deux yeux du côté droit. Il mesure 20 à 50 cm de long et est de couleur vert-brune avec des taches noires, brunes et jaune-orange. C'est une espèce benthique présente sur les fonds meubles près de la côte à faible profondeur et vivant en bancs. L'été, il fréquente les eaux saumâtres et le cours inférieur des fleuves alors qu'en hiver, il fréquente les eaux plus profondes. Ce poisson plat est celui qui supporte le mieux les baisses de salinité, c'est la raison pour laquelle il se retrouve parfois en eaux saumâtres et même en rivières et dans certains lacs. Sa période de reproduction se situe de février à mai. Son régime alimentaire est constitué de petits invertébrés benthiques et suprabenthiques

(bivalves, polychètes, crevettes, mysidacés) et de petits poissons. Le flet est présent de la mer Blanche jusqu'en Méditerranée et en mer Noire.



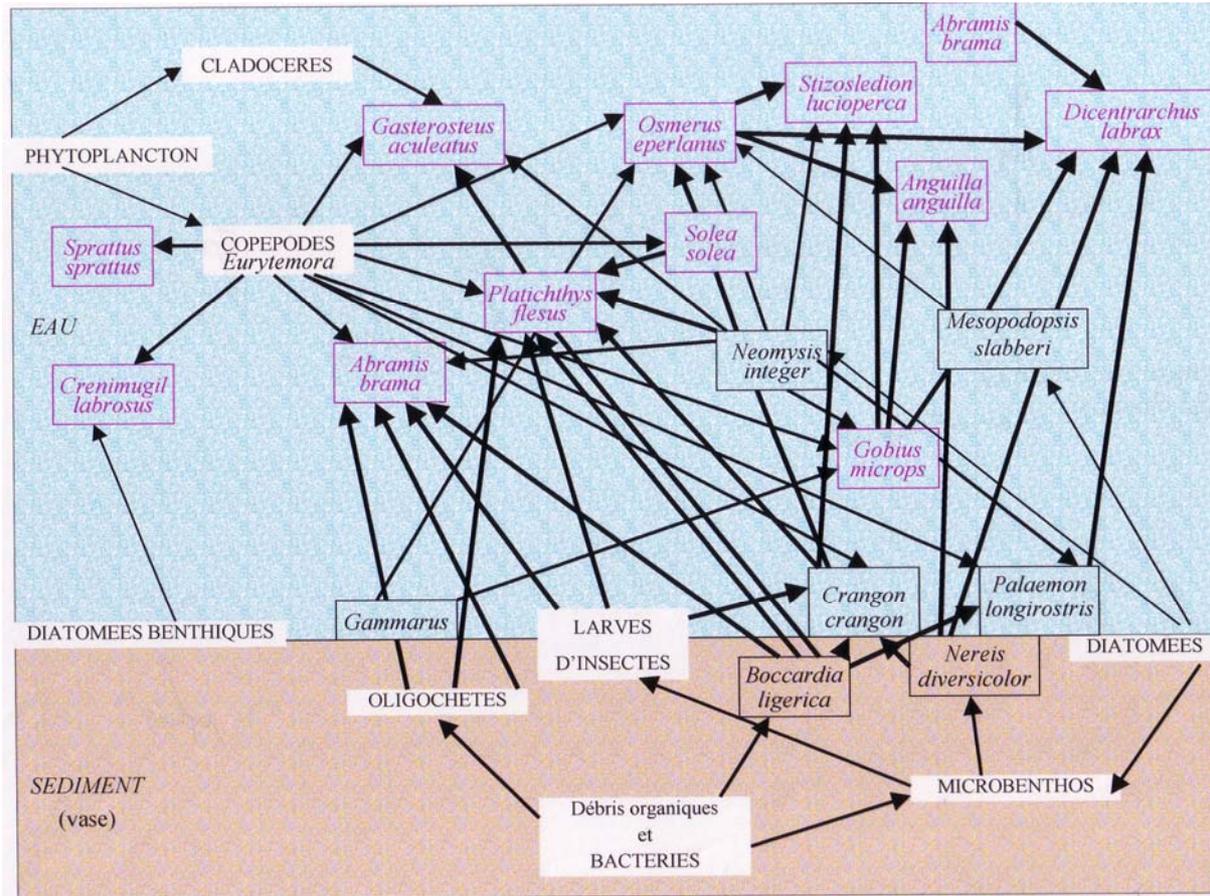
- La sole : *Solea solea* (Linné, 1758) : La sole est une espèce très largement répandue en France. Il s'agit d'un poisson démersal vivant sur les fonds sableux ou vaseux des eaux littorales entre quelques mètres et 70 mètres de profondeur. Sa taille maximale peut atteindre 70 cm pour 3 kg. Cette espèce est nocturne et passe sa journée enfouie dans le sédiment. Sa reproduction a lieu en zone côtière au printemps. Son régime alimentaire est constitué essentiellement de proies benthiques (bivalves et polychètes) et les jeunes se nourrissent plutôt de copépodes marins.



- L'anguille européenne : *Anguilla anguilla* (Linné, 1758) : Il s'agit d'un poisson serpentiforme de la famille des anguillidés. Ce migrateur amphihaline, catadrome et thalassotoque se reproduit en mer (mer des Sargasses) puis effectue une longue migration à l'état de larve leptocéphale pour coloniser largement les milieux d'eau douce depuis l'estuaire jusqu'en amont des bassins. Cette espèce ne se reproduit que dans des conditions de fortes pressions et à une température supérieure à 17°C. La ponte a lieu à - 400 mètres à la fin de l'hiver. Les jeunes larves leptocéphales (5 mm) éclosent au printemps traversent l'océan (6 à 12 mois) en profitant des courants. A l'approche du talus continental, elles ne s'alimentent plus et se métamorphosent en civelles transparentes (55 à 90 mm) qui vont se pigmenter en quelques semaines en se dirigeant vers l'estuaire. Une partie d'entre elles reste en mer et l'autre migre vers le milieu dulçaquicole. Elles évoluent en anguilles jaunes et grandissent à des vitesses liées aux caractéristiques des milieux colonisés. Au bout de plusieurs années, elles subissent une seconde métamorphose en anguilles argentées avant de regagner la mer et de poursuivre leur maturation sexuelle au cours de leur migration de retour sur leur lieu de ponte. Les mâles vivent en eau douce 6 à 12 ans alors que les femelles peuvent y rester 9 à 20 ans. Leur taille peut varier de 30 à 60 cm pour les mâles et peut atteindre 150 cm pour les femelles qui peuvent peser jusqu'à 2,5 kg. Leur durée de vie moyenne est de vingt ans. Elles se nourrissent de petits crustacés, d'insectes aquatiques, de vers et de poissons sauf pendant leur migration en mer. Leurs larves se nourrissent de plancton.

### I.1.4. Les réseaux trophiques

Tous les organismes vivant dans les estuaires font partie de réseaux trophiques souvent très complexes. Les études menées sur ces réseaux font part d'une grande diversité d'individus. Les différentes études réalisées par Marchand *et al.* (1977) ont permis d'établir des schémas complets de deux réseaux trophiques de l'estuaire de la Loire ; ceux-ci étant différents entre l'amont et l'aval (figures 1 et 2) :



**Figure 1 :** Le réseau trophique du banc de Pipy situé en amont de l'estuaire de la Loire (Marchand *et al.*, 1977).

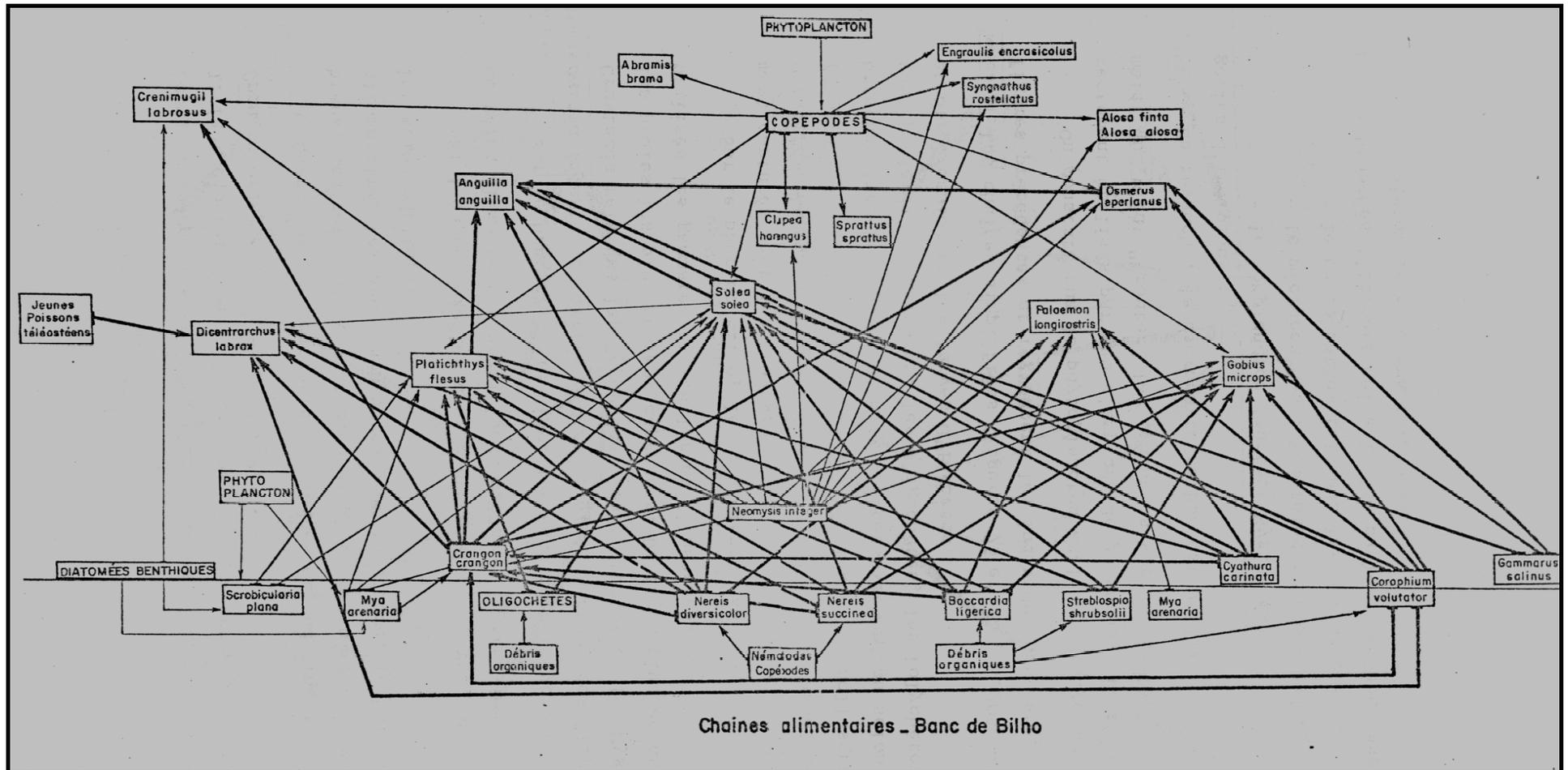
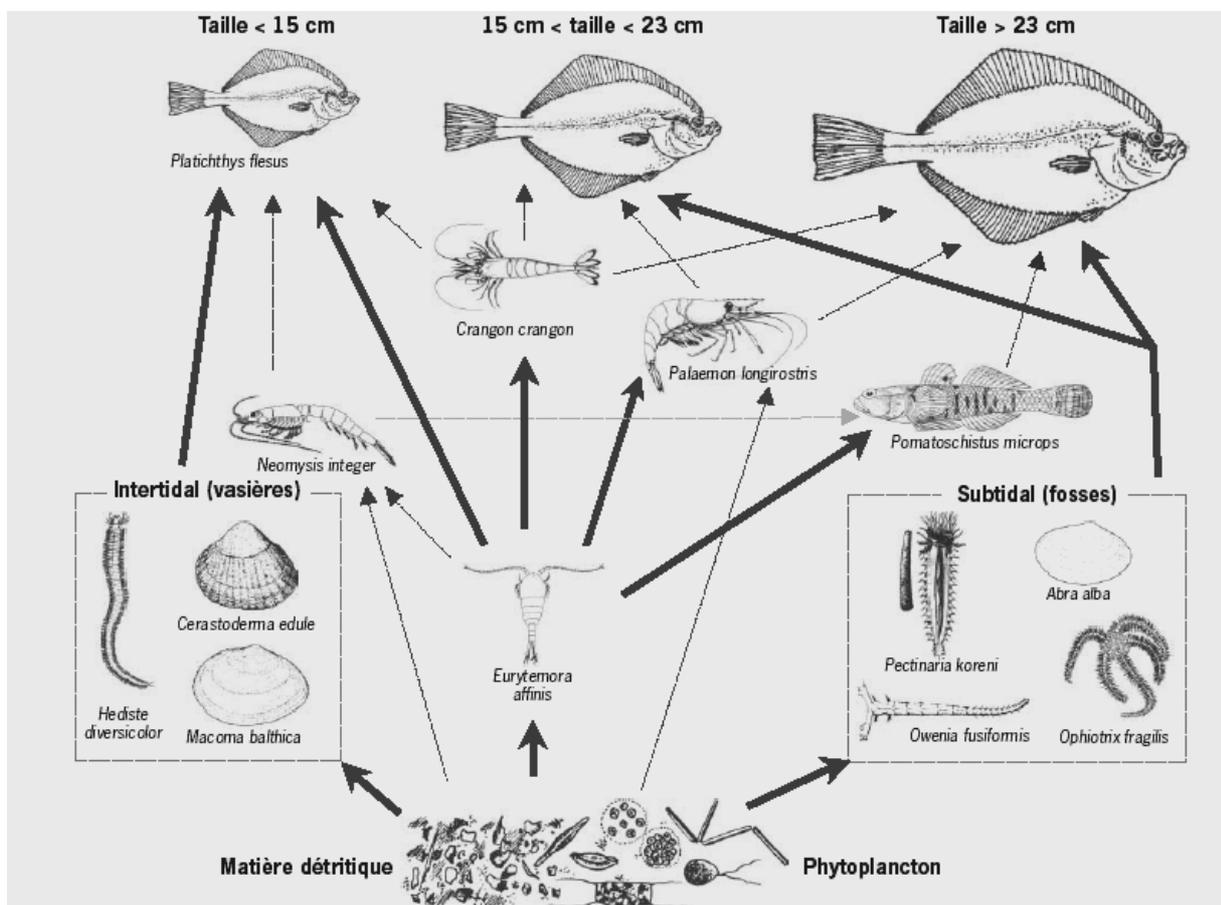


Figure 2 : Le réseau trophique du banc de Bilho situé vers l'aval de l'estuaire de la Loire (Marchand *et al.*, 1977).

Dans l'estuaire de la Seine, différentes études menées sur quelques individus ont permis la description de réseaux trophiques d'espèces bien particulières mais aucun réseau global n'a été décrit (Costil *et al.*, 2002).

Ces études ont tout de même montré que des comportements différents apparaissaient à l'intérieur de chaque espèce suivant la taille des poissons, chaque groupe de taille s'alimentant de proies particulières (exemple du réseau trophique du flet sur la figure 3). Il existe également des variations saisonnières dans le régime alimentaire puisque certaines proies ne sont disponibles qu'à certains moments de l'année (par exemple la crevette grise est moins présente en hiver).



**Figure 3 :** Le réseau trophique du flet (Costil *et al.*, 2002).

Ces réseaux fournissent de précieuses informations pour étudier la biomagnification des contaminants car ils permettent de situer les organismes dans les chaînes alimentaires et de savoir qui est la proie ou le prédateur de qui.

Les différentes espèces choisies ici représentent différents niveaux de réseaux trophiques :

- les producteurs primaires représentés par l'algue *Fucus ceranoïdes*
- les consommateurs primaires représentés par le zooplancton et les bivalves
- les omnivores représentés par les annélides polychètes, par les crevettes, par les flets et par les soles
- les nécrophages représentés par le crabe *Carcinus maenas*
- Les supercarnivores représentés par les anguilles *Anguilla anguilla*.

Malgré cette richesse biologique, les estuaires sont des milieux extrêmement touchés par les apports de contaminants.

### **I.1.5. Les apports de polluants**

Les rives de la Loire sont le siège de nombreuses activités industrielles telles que le raffinage du pétrole, la fabrication d'engrais, la chimie, la construction navale et aéronautique, la fabrication du papier, l'agroalimentaire ou la production d'électricité. A cela viennent s'ajouter les très nombreuses cultures et les centaines de milliers d'habitants y vivant. L'estuaire de la Loire est donc soumis à différentes pollutions. La population située sur le bassin versant de la Seine représente 16 millions d'habitants soit 26% de la population française. 80% de ces habitants habitent en zone urbaine. Le bassin concentre 40% de l'activité économique française et 50% du trafic fluvial national. 60% de sa superficie est occupé par des terres labourables. L'estuaire de la Seine est donc le point d'arrivée d'un vaste bassin versant à forte concentration démographique et industrielle et est ainsi également susceptible d'être touché par de multiples pollutions (Avoine, 2002).

Les pollutions susceptibles d'y être rencontrées sont les suivantes (Cellule de Mesures et de Bilans de la Loire Estuarienne, 2000 ; Avoine, 2002) :

- ***Les matières en suspensions (MES)*** : Elles sont composées de fines particules insolubles dont la provenance est variée : érosion des sols, débris organiques, rejets urbains ou industriels (agroalimentaire, papeterie, textile, chimie). Leur présence excessive peut augmenter la turbidité du milieu et réduire la production photosynthétique, générer des carences en oxygène ou encore avoir des effets mécaniques sur les poissons par colmatage des branchies ou sédimentation des zones de frayères.
- ***Les matières organiques oxydables*** : Elles sont présentes dans la plupart des effluents et sont biodégradables. Elles sont progressivement réduites sous l'action de

l'oxygène dissous dans l'eau dont la concentration va se réduire et engendrer un manque pour les espèces vivantes.

- **Les pollutions par l'azote (nitrate, nitrite, ammoniac, azote organique).** Elles proviennent de l'agriculture qui emploie des engrais chimiques contenant des nitrates, des eaux domestiques dont l'épuration ne permet pas d'éliminer l'azote sous toutes ses formes et des eaux industrielles. Elles contribuent à des situations d'anoxie des milieux aquatiques lorsque l'azote ammoniacal se transforme en nitrites puis nitrates en consommant de l'oxygène. En milieu marin, elles peuvent favoriser l'eutrophisation des écosystèmes.
- **Pollution phosphorée** (phosphore total et phosphates) d'origine domestique, industrielle et agricole. Elle est responsable du phénomène d'eutrophisation dans les rivières.
- **Pollution par le carbone** (mesurée sous forme de Carbone Organique Total) provenant des eaux usées urbaines.
- **Pollution par les rejets industriels spécifiques** : rejets acides ( $H_2SO_4$  employé dans le procédé d'attaque de minerai) ou rejets de phosphogypses (sous-produits de fabrication de l'acide phosphorique dans l'industrie des engrais).
- **Pollutions métalliques** provenant du lessivage des sols et des sous-sols, de l'industrie (fonderies, traitement de surface, accumulateurs, peintures,...), de l'agriculture (engrais, biocide, lisier,...) et des usages domestiques (chauffage, peinture, piles,...). Les métaux les plus présents sont : le cuivre, le zinc, le cadmium, le mercure, le plomb, le chrome et le fer.
- **Pollutions organiques** : leur présence résulte de la production industrielle de composés de synthèse et des utilisations domestiques de ces produits. Elles englobent les hydrocarbures et les phénols (raffinage), les organochlorés (polychlorobiphényles, le lindane,...), les matières plastiques, les pesticides, les plastifiants, les détergents et les colorants. Cette liste n'est bien sûr pas exhaustive puisque de nombreux composés arrivent sur le marché chaque jour et sont donc susceptibles d'être relargués dans ce milieu. La plupart de ces contaminants ont la capacité de s'adsorber sur la matière en suspension conduisant à la formation de stocks sédimentaires de produits potentiellement très toxiques puisque leur dégradation est extrêmement longue et conduit, la plupart du temps, à des résidus dont la toxicité potentielle n'est pas moindre que celle du composé parent.

Toutes ces pollutions peuvent être apportées par voie terrestre ou aérienne.

Le bouchon vaseux joue également un rôle fondamental dans une éventuelle dégradation de la qualité du milieu aquatique puisque (Avoine, 2002 ; Romaña, 1994) :

- Les micropolluants adsorbés sur les sédiments viennent s'y accumuler.
- L'oxydation du stock de matières organiques particulières biodégradables peut conduire à un déficit en oxygène dissous durant l'été (c'est le cas de l'estuaire de la Loire en période estivale).
- Le bouchon vaseux accumule les bactéries d'origine animale ou humaine.
- Sa forte turbidité limite la pénétration lumineuse et réduit la production primaire.
- L'accentuation de la salinité, le manque d'eau douce, la turbidité, l'anoxie du milieu engendrée par le bouchon vaseux et son extension constituent des atteintes pour les poissons qui peuvent se retrouver piégés dans le bouchon ou bloqués en amont ou en aval.

Différents programmes de suivi de la contamination des milieux aquatiques ont été mis en place en France :

- Le contrôle sanitaire des eaux destinées à la consommation humaine réalisé par la DDASS. La surveillance établie en 1990 et limitée dans un premier temps aux triazines, aux organochlorés et aux organophosphorés a été élargie aux phénylurées, aux aryloacides et aux phénols-alcools.
- Le Réseau National d'Observation (RNO) de la qualité du milieu marin coordonné par l'IFREMER. Il a pour principal objectif d'évaluer les niveaux et les paramètres généraux de la qualité du milieu marin. La surveillance des contaminants porte en priorité sur la matière vivante susceptible de subir une bioconcentration, essentiellement moules et huîtres utilisées comme indicateurs de contamination (RNO, 1995).
- Le suivi des eaux souterraines mis en place par les Agences de l'Eau.
- Le Réseau National de Bassin (RNB) de l'Agence de l'eau et du Ministère de l'Environnement et de l'Aménagement du Territoire (DIREN) qui suit la qualité des eaux superficielles et permet d'étudier l'évolution de la qualité du milieu aquatique.
- Le Réseau National des Données sur l'Eau (RNDE) qui assure l'exploitation de banques de données thématiques couvrant les domaines suivant : hydrométrie

(HYDRO), pluviométrie (PLUVIO), qualité des eaux littorales (QUADRIGE) et populations piscicoles (BHP).

- Le Service d'Administration National des Données et Références sur l'Eau (SANDRE) réalisant un suivi et un recensement des données concernant la quantité et le débit des cours d'eau, les niveaux des nappes souterraines, les rejets des collectivités et des stations d'épuration et l'hydrologie des cours d'eau.
- Les études et suivis particuliers conduits par divers organismes de recherche ou des collectivités territoriales.

Dans la longue liste de polluants susceptibles d'avoir un impact important sur les espèces vivant dans les estuaires, notre attention s'est portée sur deux types de contaminants : les premiers appartiennent à la famille des polluants organiques persistants (POP), il s'agit des retardateurs de flamme et les seconds sont des pesticides, l'atrazine, l'atrazine déséthyle et la simazine, qui ont été très largement utilisés pendant de nombreuses années mais dont l'emploi est désormais interdit en France.

## **I.2. Les contaminants étudiés**

### **I.2.1. Les polluants organiques persistants**

#### **I.2.1.1. Généralités**

Les polluants organiques persistants (POP) sont bien connus aujourd'hui de part leurs nombreuses propriétés (Swedish Environmental Protection Agency, 1998) :

- La toxicité : Les POP sont associés à une large gamme d'effets tels que des malformations à la naissance et pendant le développement, des cancers, des diminutions de la résistance vis-à-vis des infections, des perturbations du système endocrinien,...que ce soit à cause d'expositions chroniques à de faibles concentrations ou à cause d'une exposition ponctuelle importante.
- La persistance : Les POP sont très résistants aux dégradations que ce soit dans l'environnement physique ou lors de leur absorption par les plantes ou les animaux. Lorsqu'ils sont relargués dans l'environnement, ils y restent très longtemps.
- La migration : Le caractère semi-volatil des POP fait qu'ils passent facilement de l'état solide à l'état gazeux à des températures élevées et redeviennent solides au contact du froid. Ainsi, ces polluants sont susceptibles de s'évaporer

sur leur lieu de dissémination (lors de leur incinération par exemple) puis d'être transportés par les vents et enfin de se condenser sous l'impact de l'air froid jusqu'en Arctique où ils retombent et s'y accumulent car les basses températures ne favorisent pas l'évaporation. Ces polluants ont tendance à répéter ce cycle plusieurs fois et sur de longues distances : ce phénomène est appelé "effet sauterelle".

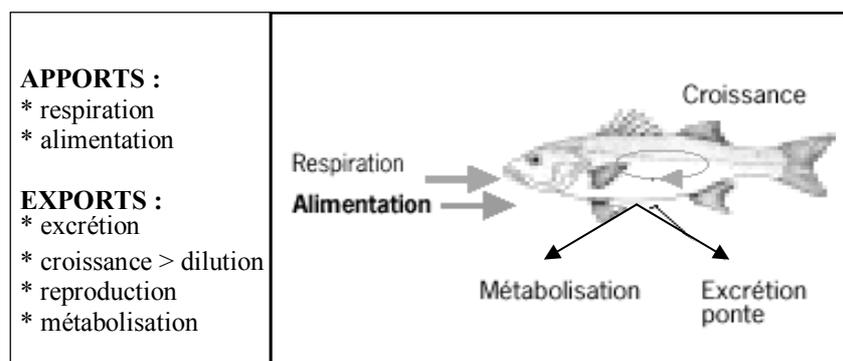
- La bioaccumulation et la biomagnification : ces deux caractéristiques font que les POP vont être capables de s'accumuler dans les organismes puis de s'amplifier au fur et à mesure de l'élévation dans la chaîne alimentaire.

### **I.2.1.2. La biomagnification**

Différents termes sont employés afin de caractériser le processus de passage d'un contaminant de l'extérieur (qu'il s'agisse de milieu physique ou biologique) vers un organisme :

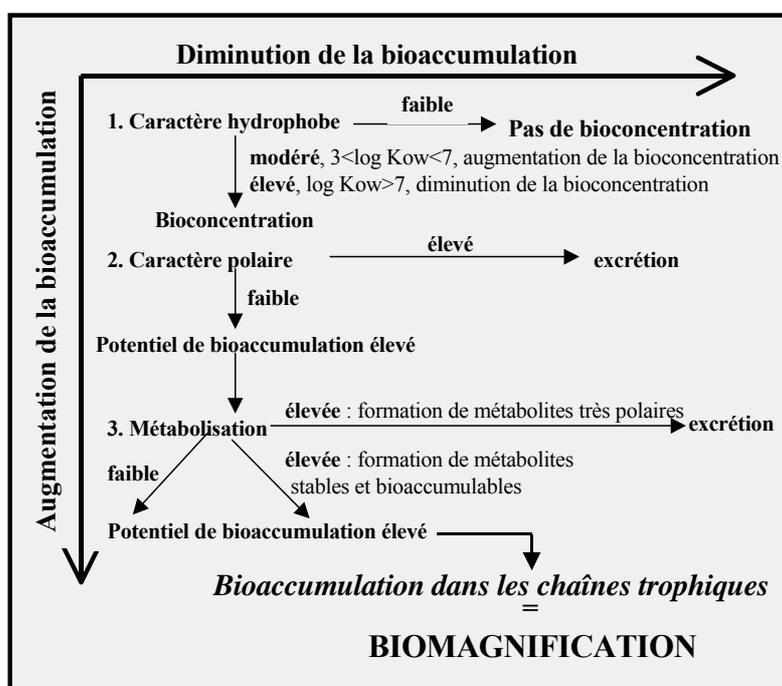
- ✓ La bioconcentration (Forbes et Forbes, 1994) : Passage d'un contaminant depuis l'environnement abiotique (par exemple l'eau en ce qui nous concerne) jusqu'à un organisme engendrant son accumulation à l'intérieur de cet organisme.
- ✓ La bioaccumulation fait intervenir les deux types de contamination : depuis le milieu abiotique et depuis la nourriture (Forbes et Forbes, 1994).
- ✓ La biomagnification correspond au processus selon lequel la concentration d'un composé chimique dans un organisme atteint un niveau qui excède la concentration de ce même composé dans la proie qu'il consomme ; son accumulation se faisant par l'alimentation (Gobas et Morrison, 2000). Cette notion, bien moins connue que la bioconcentration ou la bioaccumulation, a vu le jour avec les premières études de Carson (1962) sur ce sujet.

*En général, la contamination d'une espèce résulte de l'équilibre entre, d'une part les entrées par la respiration et l'alimentation et, d'autre part, les sorties par l'excrétion, la biotransformation, la reproduction et la croissance (figure 4).*



**Figure 4 :** Schéma des différentes entrées et sorties de contaminants chez les poissons (d'après Abarnou *et al.*, 2000).

En prenant l'exemple du milieu aquatique, différentes étapes vont donc conduire à l'accumulation des contaminants dans les organismes (figure 5). Les composés hydrophobes, dont le coefficient octanol-eau est élevé ( $K_{ow} > 3$ ), vont avoir tendance à s'adsorber sur les particules en suspension ainsi que sur le phytoplancton qui accumule également les contaminants par diffusion intracellulaire. La bioconcentration dépend donc des caractéristiques physico-chimiques des contaminants. Les organismes vont absorber ces particules et les composés les plus hydrophobes seront stockés dans des tissus riches en lipides où ils auront tendance à constituer des stocks importants en raison de leur caractère persistant. Si les contaminants sont lentement métabolisés, ils vont également pouvoir s'accumuler à chaque niveau de transfert entre proie et prédateur.



**Figure 5 :** Propriétés physico-chimiques des contaminants agissant sur leur bioaccumulation (d'après Norstrom *et Letcher*, 1996).

### I.2.1.3. Les retardateurs de flamme

Parmi les nombreux polluants organiques persistants existants se trouvent les retardateurs de flamme encore peu connus en France mais pourtant très présents dans l'environnement.

Depuis des siècles, les incendies ont toujours été à l'origine de dégâts matériels importants mais également de dégâts humains. Alors, afin de réduire le plus possible ces incidents, des recherches ont été menées sur des produits susceptibles de retarder voire d'empêcher l'ignition d'une large gamme de textiles, plastiques, matériaux de construction et

équipements électroniques utilisés dans les commerces et dans les maisons. Ces composés sauveraient chaque année de nombreuses vies.

Pourtant, malgré leurs avantages indiscutables, depuis quelques années, ces produits se sont révélés être présents dans tous les compartiments environnementaux. Ils sont également soupçonnés d'être à l'origine de perturbations biologiques graves au même titre que les PolyChloroBiphényles (PCB). Ainsi, l'inquiétude des chercheurs et des consommateurs à l'égard de ces produits grandit à chaque nouvelle découverte et leur devenir semble aussi inquiétant que celui des PCB.

Ainsi, depuis 1997, le nombre de publications décrivant la distribution, l'accumulation et la toxicité de nombreux retardateurs de flamme, et particulièrement les PolyBromoDiphénylEthers (PBDE), a augmenté de façon exponentielle. Leur distribution très étendue jusque dans des endroits très éloignés des sites de production et d'utilisation comme en Arctique ou dans le fond des océans (Sellström *et al.*, 1993 ; De Boer *et al.*, 1998a, 1998b) a attiré l'attention de la communauté scientifique, du gouvernement et du public. De plus, les concentrations de PBDE augmentent de façon exponentielle depuis 25 ans.

#### *1.2.1.3.i. Généralités sur les retardateurs de flamme*

### **Historique**

Les premiers matériaux retardateurs de flamme halogénés sont apparus à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle mais ils avaient déjà été inventés par les Egyptiens 450 ans avant J-C. En effet, ceux-ci utilisaient l'alumine pour réduire l'inflammabilité du bois. De même, les Romains, 200 ans avant J-C, protégeaient leurs charpentes en bois du feu avec un mélange de vinaigre et d'alumine (Hindersinn, 1990). Depuis, leur composition a bien évolué. Les industriels ont commencé à fabriquer des retardateurs de flamme à base de chlore puis les ont remplacés par des retardateurs de flamme à base de brome. Leur augmentation a été rapide dans les années 70 et 80 du fait de l'expansion des ordinateurs et des mesures de sécurité mises en place pour la lutte contre les incendies.

Les premiers retardateurs de flamme bromés (BFR) à être apparus sont les PolyBromoBiphényles (PBB) en 1970. Leur structure est la même que celle des PCB mais un brome remplace le chlore. Cependant, en 1973, un accident survient aux Etats-Unis, dans le Michigan : 500 kg de PBB sont accidentellement substitués à de l'oxyde de magnésium, utilisé comme complément alimentaire, engendrant un empoisonnement important de bétails et de

poulets. De nouveaux retardateurs de flamme viennent donc prendre la place des PBB : il s'agit des PolyBromoDiphényls Ethers (PBDE). Aujourd'hui, ceux-ci dominent le marché mondial notamment le DecaBromoDiphenylEther (10 bromes/molécule).

### **Production et législation**

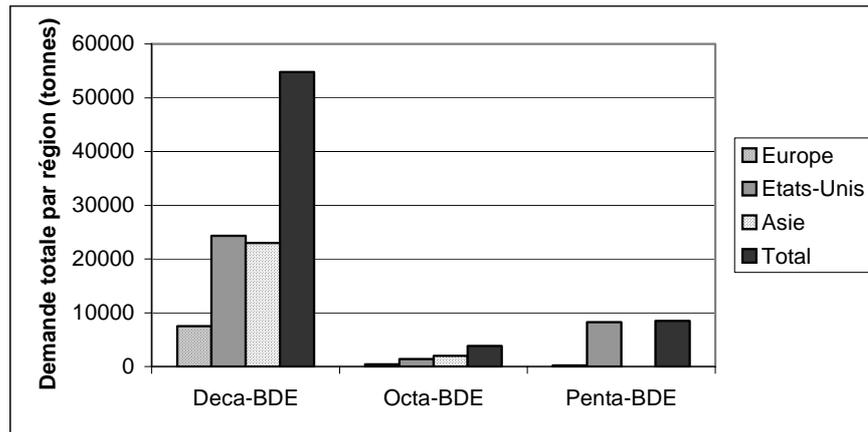
*N.B.* : Les BFR sont toujours employés dans l'industrie sous forme de mélanges de congénères. En général, le nom donné au produit correspond au nom du congénère le plus présent dans le mélange.

La production commerciale des PBB a débuté en 1970 aux Etats-Unis sous la forme d'un produit appelé Firemaster®. Suite à l'incident de 1973, les mélanges techniques d'Hexabromobiphényles ont été interdits à partir de 1974 mais la production de mélanges techniques d'Octabromobiphényles et de Decabromobiphényles a continué jusqu'en 1979 (EHC-152, 1994). En Europe, des mélanges de PBB hautement bromés ont été produits jusqu'en 1985 et en France, le Decabromobiphényle (Adine 0102) a été produit jusqu'au 30 septembre 2000 (EHC-152, 1994 ; Hardy, 2000). Ces molécules ne sont plus produites à l'heure actuelle mais les stocks peuvent encore être utilisés (OSPAR, 2001).

Les PBDE sont commercialisés sous forme de mélanges de congénères :

- Le Penta-BDE correspond à un mélange de BDE-99 et de BDE-47 (majoritaires) et de BDE-17, BDE-28, BDE-153 et BDE-154 (Alaee *et al.*, 2003).
- L'Octa-BDE contient majoritairement du BDE-183 mais également du BDE-153 et du BDE-203 (Alaee *et al.*, 2003).
- Le Deca-BDE est majoritairement constitué de BDE-209 mais contient également des traces de congénères de Nona-BDE (Alaee *et al.*, 2003).

En 1999, la demande totale de l'Europe en Penta-BDE représentait 2,5% du marché mondial, celle de l'Octa-BDE représentait 12% et celle du Deca-BDE représentait 14% (figure 6) (BSEF, 2000). Le mélange technique le plus utilisé était le Deca-BDE puisqu'il représentait 92% de tous les mélanges existants.



**Figure 6 :** Demande totale (tonnes) par région des trois mélanges techniques de PBDE employés en 1999 (BSEF, 2000).

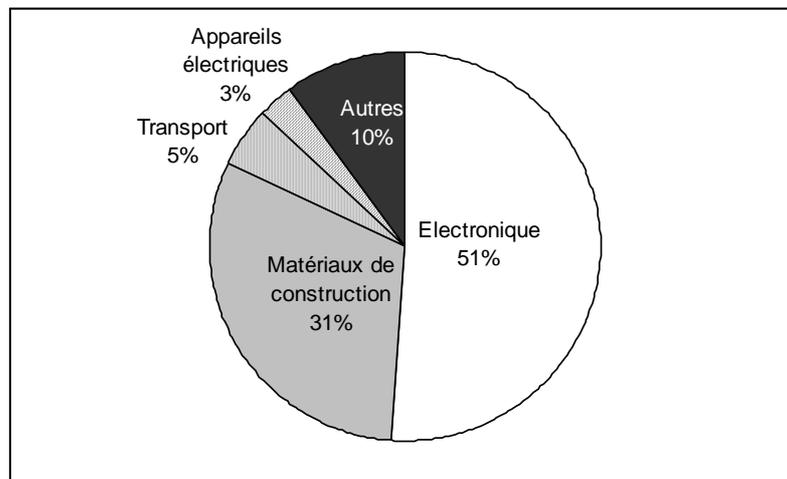
La production globale de BFR en Europe et aux Etats-Unis a eu tendance à baisser depuis 1994 (Alaee *et al.*, 2003). Cette baisse devrait d'ailleurs se poursuivre en Europe puisque le Parlement Européen a interdit la production et l'emploi dans toutes les applications du marché européen du Penta-BDE et de l'Octa-BDE depuis le 15 août 2004 (Directive 2003/11/CE du Parlement Européen et du Conseil, 2003). De plus, les Etats membres devront veiller à ce qu'à compter du 1<sup>er</sup> juillet 2006, les nouveaux équipements électriques et électroniques mis sur le marché ne contiennent pas de PBB et de PBDE (Directive 2002/95/CE du Parlement Européen et du Conseil, 2003). Ces directives ne visent pour l'instant pas le Deca-BDE toujours soumis à une nouvelle évaluation des risques. En effet, en mai 2004, suite aux conclusions d'un premier rapport d'évaluation des risques indiquant que le Deca-BDE ne donnait lieu à aucune préoccupation, les autorités européennes ont décidé de ne pas interdire ce produit (BSEF, 2004). Cependant, d'après l'article 5 (2) de la directive 2202/95/CE, la Commission doit consulter les producteurs de produits électriques et électroniques, les recycleurs, les organisations environnementales, les employés et les associations de consommateurs avant d'amender la directive. Cette procédure est actuellement en cours et les scientifiques demandent qu'une nouvelle évaluation des risques soit réalisée pour le Deca-BDE afin que son interdiction soit ajoutée à cette directive.

### **Domaine d'utilisation**

Le domaine d'application des retardateurs de flamme bromés (BFR) est aujourd'hui extrêmement large et varié comme nous le montre le tableau II et la figure 7.

**Tableau II :** Sources de retardateurs de flammes dans la vie quotidienne - Tableau réalisé d'après la "Swedish Environmental Protection Agency" (1998) et la "Norwegian Pollution Control Authority" (2001).

<i>TYPES DE SOURCES</i>	<i>PROVENANCE POUR CHAQUE SOURCE</i>
<b>TRANSPORT</b> (voitures, bus, avions)	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Parties électriques et électroniques</li> <li>✓ Revêtements textiles comme les housses de sièges</li> </ul>
<b>CONSTRUCTION</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ polystyrène</li> <li>✓ polyuréthane</li> <li>✓ peinture</li> <li>✓ mastic</li> <li>✓ éclairages</li> <li>✓ plastique utilisé pour l'isolation des tuyaux</li> <li>✓ isolation des toits</li> </ul>
<b>INDUSTRIE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ dans divers produits de la chimie</li> <li>✓ fibres synthétiques</li> <li>✓ polymères</li> <li>✓ résines</li> <li>✓ colles</li> <li>✓ mousse de polyuréthane pour les meubles et les garnitures intérieures</li> </ul>
<b>TEXTILES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ textiles de toute sorte</li> <li>✓ tapis</li> <li>✓ meubles tels que canapés, matelas,...</li> </ul>
<b>EQUIPEMENTS ELECTRONIQUES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ boîtiers et circuits imprimés d'ordinateurs, de télévisions, de chaînes HI-FI, de téléphones,...</li> </ul>



**Figure 7 :** Taux de retardateurs de flamme utilisés dans différents secteurs (Pijnenburg *et al.*, 1995).

A la vue de ce tableau et de cette figure, il est facile de se rendre compte de l'omniprésence de ces contaminants dans notre environnement de tous les jours. De plus, ces contaminants deviennent vite volatiles à la chaleur. Ainsi, un ordinateur ou une télévision fonctionnant en continu dégagent de la chaleur et donc des BFR ; de même que l'incinération de tous les produits mentionnés dans le tableau II.

### **Propriétés physiques et chimiques**

Plus de 175 retardateurs de flammes différents, divisés en 5 grands groupes, sont aujourd'hui utilisés (WHO/ICPS, 1997) :

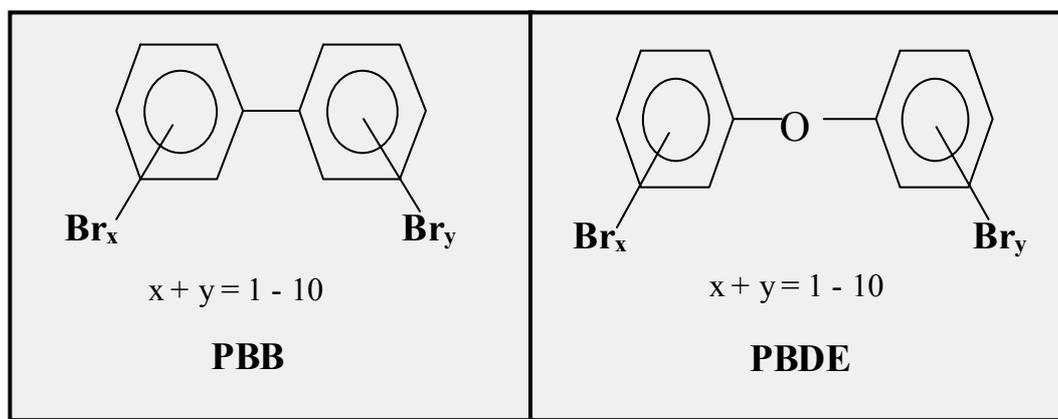
- les inorganiques
- les organiques halogénés dont les chlorés et les bromés (BFR)
- les organophosphorés
- les composés à base de nitrogène
- les mélanges

Les BFR sont classés en matériaux réactifs ou additifs. Les réactifs, qui incluent des composés comme le tetrabromobisphenol A (TBBPA) et ses dérivés, sont chimiquement liés aux plastiques (WHO/ICPS, 1995). Les additifs, qui comprennent les PolybromoDiphenyl Ethers (PBDE), les PolybromoBiphenyls (PBB) et l'HexaBromoCycloDodecane (HBCD), sont utilisés comme additifs dans une large gamme de polymères et de résines (WHO/ICPS, 1997).

Les réactifs ont les mêmes groupes fonctionnels que les monomères avec lesquels ils réagissent. Ils sont liés de façon covalente aux polymères et sont donc moins susceptibles d'être relargués dans l'environnement. De plus, ils sont résistants aux solvants. Le problème vient du fait qu'ils sont spécifiques aux polymères (Hairston, 1995). Les retardateurs de flamme additifs ne sont pas chimiquement incorporés aux polymères. Ils sont mêlés ou dissous dans le matériau et peuvent ainsi migrer hors du produit toute sa vie (Sellström, 1996).

Lors d'un incendie, ces composés commencent à se décomposer à partir de la moitié de la température de combustion du polymère.

Les formules générales des PBB et des PBDE sont représentées dans la figure 8. En combinant la position des bromes sur les phénols, 209 congénères sont obtenus pour chaque produit.



**Figure 8 :** Structure chimique des PBB et des PBDE.

Leur fabrication et leurs caractéristiques varient en fonction des produits.

#### *Les PBB :*

Les PBB sont fabriqués en utilisant une réaction du type Friedel-Crafts au cours de laquelle les biphenyls réagissent avec les bromes en présence ou absence de solvants organiques. Les catalyseurs utilisés sont soit le chlorure d'aluminium, soit le bromure d'aluminium, soit le fer (Brinkman and de Kok, 1980). Les PBB sont très stables chimiquement et sont résistants aux acides, aux bases, à la chaleur, aux réductions et aux oxydations. Cependant, il est important de noter que les atomes de chlore des PCB s'associent plus fortement aux polybiphényls que les atomes de brome (WHO/ICPS, 1994a). Leur stabilité dépend en partie de leur degré de bromation et de leurs voies de substitutions (Safe, 1984).

Le tableau III résume les différentes propriétés des produits utilisés dans le commerce.

**Tableau III :** Données physico-chimiques sur les produits commerciaux de PBB (WHO/ICPS, 1994a et b ; Pijnenburg *et al.*, 1995 ; ATSDR, 2002). HxBB : HexaBromoBiphényle ; OcBB : OctaBromoBiphényle ; NoBB : NonaBromoBiphényle ; DeBB : DecaBromoBiphényle.

	HxBB (C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>6</sub> )	OcBB (C <sub>12</sub> H <sub>2</sub> Br <sub>8</sub> )	NoBB (C <sub>12</sub> H <sub>1</sub> Br <sub>9</sub> )	DeBB (C <sub>12</sub> Br <sub>10</sub> )
<b>Masse moléculaire relative</b>	627,4	785,2	864,1	943
<b>Point de fusion (°C)</b>	124-248	200-250	220-385 (suivant la littérature)	360-386
<b>Point de décomposition (°C)</b>	300-400	435	435	395-400
<b>Volatilité (% de poids perdu)</b>		< 1% à 250°C < 10% à 330°C < 50% à 350°C	1-2 % à 300°C	< 5% à 341°C < 10% à 363°C < 25% à 388°C
<b>Pression de vapeur (Pa)</b>	0,000007 à 25°C 0,01 à 90°C 1 à 140°C 100 à 222°C			<0,0000006 (température non donnée)

<b>Solubilité dans l'eau</b> ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ; 25°C)	11	30-40	insoluble	insoluble
<b>Log Kow</b>	6,39		5,53	8,58
<b>Constante de Henry</b> ( $\text{atm.m}^3.\text{mol}^{-1}$ )	$3,9.10^{-6}$	$1,38.10^{-6}$		

**Tableau IV :** Données physico-chimiques sur les produits commerciaux de PBDE (WHO/ICPS, 1994a et b ; Pijnenburg *et al.*, 1995 ; ATSDR, 2002).

TeBDE : TetraBromoDiphenylEther, PeBDE : PentaBromoDiphenylEther, OcBDE : OctaBromoDiphenylEther, DeBDE : DecaBromoDiphenylEther.

	<b>TeBDE</b> ( $\text{C}_{12}\text{H}_4\text{Br}_4\text{O}$ )	<b>PeBDE</b> ( $\text{C}_{12}\text{H}_2\text{Br}_6\text{O}$ )	<b>OcBDE</b> ( $\text{C}_{12}\text{H}_2\text{Br}_8\text{O}$ )	<b>DeBDE</b> ( $\text{C}_{12}\text{Br}_{10}\text{O}$ )
<b>Masse moléculaire relative</b>	485,82	564,75	801,47	959,22
<b>Point de fusion (°C)</b>	79-82 (BDE-47)	92 (BDE-99) 97-98 (BDE-100) 300 (point d'ébullition)	75-220 (suivant la littérature)	290-306
<b>Point de décomposition (°C)</b>		> 200		De >320 à >425
<b>Volatilité (% de poids perdu)</b>				1% à 319°C 5% à 353°C 10% à 370°C 50% à 414°C 90% à 436°C
<b>Pression de vapeur (Pa)</b> (à 20°C)	$2,7-3,3 \times 10^{-4}$	$2,9-7,3 \times 10^{-5}$	$1,2-2,7 \times 10^{-7}$	< $10^{-4}$ à 25°C 670 à 306°C
<b>Solubilité dans l'eau (à 25°C)</b>		$9 \times 10^7 \text{ mg l}^{-1}$ à 20°C	<1 g l <sup>-1</sup>	20-30 $\mu\text{g l}^{-1}$
<b>Log Kow</b>	5,87-6,16	6,64-6,97	8,35-8,90	9,97
<b>Constante de Henry (atm.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>)</b>		$1,2 \cdot 10^{-5}$ $1,2 \cdot 10^{-6}$ $3,5 \cdot 10^{-6}$	$7,5 \cdot 10^{-8}$ $2,6 \cdot 10^{-7}$	$1,62 \cdot 10^{-6}$ $1,93 \cdot 10^{-8}$ $1,2 \cdot 10^{-8}$ $4,4 \cdot 10^{-8}$

Les PBB sont des composés solides avec une faible pression de vapeur. Leur volatilité est inférieure à celle des PCB (Pijnenburg *et al.*, 1995). Ils sont très peu solubles dans l'eau et leur solubilité diminue quand leur nombre de bromes augmente (WHO/ICPS, 1994a). Ils sont 200 fois plus solubles dans les eaux contenant des particules en suspension que dans l'eau distillée (WHO/ICPS, 1994a). La plupart des PBB ont un  $\text{Kow} > 7$  et sont donc considérés comme des composés extrêmement lipophiles.

#### Les PBDE :

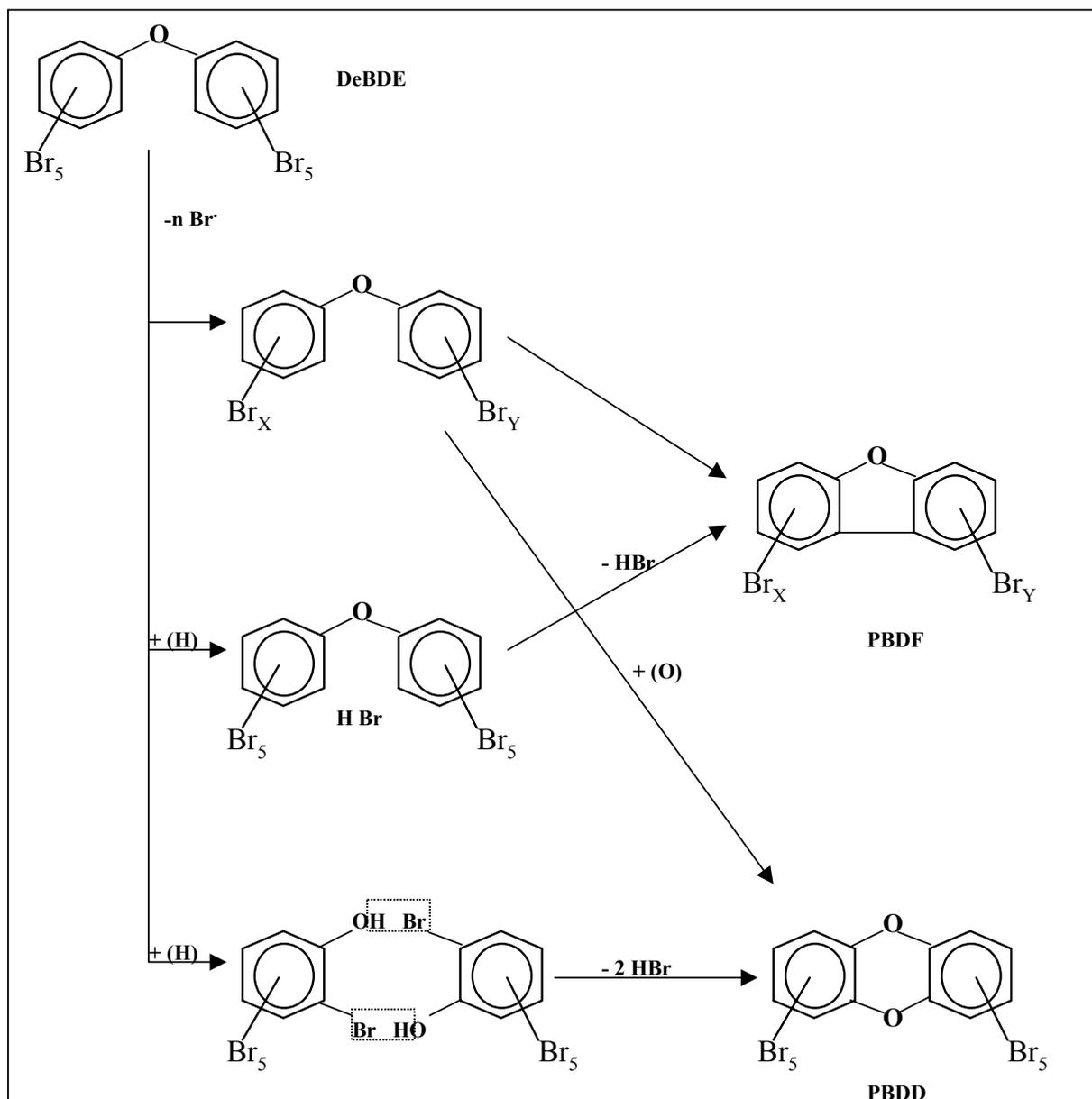
Les méthodes de préparation des PBDE mentionnent la bromation des diphenylethers en présence d'un catalyseur (Sellström, 1996). Différents mélanges industriels sont ainsi obtenus et leurs propriétés physico-chimiques sont montrées dans le tableau IV.

La présence d'un atome d'oxygène dans leur structure les rend moins similaires aux PCB. Ce sont des composés relativement stables. Leur volatilité est faible et leur solubilité dans l'eau est très faible particulièrement pour les espèces chimiques les plus chargées en brome. Les composés fortement bromés seraient donc plus persistants que les composés faiblement bromés.

Le fait que les PBB et les PBDE soient si résistants envers les acides, les bases, la lumière, les réductions et les oxydations engendre, chez eux, une persistance importante lorsqu'ils sont relargués dans l'environnement. De plus, comme le montre la figure 9, lorsque ces BFR sont soumis à la chaleur ils sont susceptibles d'engendrer des composés dont la structure est proche de celle des polychloro dibenzodioxines (PCDD) et des polychloro dibenzofuranes (PCDF) réputés pour être toxiques et notamment cancérigènes.

D'après Thoma *et al.* (1987), les PBDF et les PBDD peuvent se former dans cinq cas :

- Lors du procédé de fabrication de BFR.
- Lors du traitement des BFR avec de la résine.
- Lors de la combustion des BFR à l'occasion de feux de logements ou de bâtiments.
- Lors de l'incinération des déchets.
- Par évaporation lors de l'utilisation de sèche-cheveux ou de téléviseurs dont la température augmente avec le temps d'emploi.



**Figure 9 :** Mécanisme de formation de PolyBromo Dibenzofuranes (PBDF) et de PolyBromo Dibenzodioxines (PBDD) à partir du DecaBromo DiphenylEther (Bieniek *et al.*, 1989).

### Transformation dans l'environnement

Les retardateurs de flammes bromés sont soumis à deux types de dégradation dans l'environnement : les dégradations naturelles et les dégradations anthropiques.

#### *Les dégradations naturelles*

Les dégradations naturelles sont soit d'origine photolytique, soit d'origine microbienne.

**Décomposition photolytique :** Ces produits sont susceptibles d'être photodégradés (Buser, 1986 ; Watanabe & Tatsukura, 1987). Différents auteurs ont étudié ce phénomène en

exposant des composés bromés à des ultraviolets (UV). Les premières études ont montré que l'exposition du DeBDE à des UV et à la lumière du soleil engendrait une débromation de celui-ci en TriBDE (TriBromoDiphenylEther) pour l'exposition UV et en TeBDE pour l'exposition à la lumière naturelle (Norris *et al.*, 1973, 1975a ; Watanabe and Tatsukawa, 1987). Sellström *et al.* (1998b) ont, quant à eux, mené une expérience d'exposition du DeBDE aux UV sous lampe UV et à la lumière naturelle dans différentes matrices : toluène, sable, sédiment et terre. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau V :

**Tableau V :** Demi-vie du DeBDE soumis à la lampe UV et à la lumière naturelle dans différentes matrices (d'après Sellström *et al.*, 1998b). NC : Non Communiqué.

	<b>Demi-vie sous lampe UV</b>	<b>Demi-vie sous lumière naturelle</b>
<b>Toluène</b>	< 15 min	< 15 min
<b>Sable</b>	12 h	37 h
<b>Sédiment</b>	53 h	81 h
<b>Terre</b>	185 h	NC

Le DeBDE possède une demi-vie moins importante sous la lumière naturelle car l'intensité de l'UV artificiel est plus forte que les irradiations du soleil. Tysklind *et al.* (2001) ont pu évaluer que la demi-vie du DeBDE dans de la terre placée dans un tube en pyrex sous lumière naturelle était d'environ 200 heures ; elle était de 100 heures pour la même expérience mais menée avec du sédiment. Dans quasiment tous les milieux, le DeBDE se transforme en TeBDE et également en PeBDE ou HxBDE (HexaBromoDiphenylEther) au bout de temps parfois très longs (jusqu'à 244h) (Sellström *et al.*, 1998b ; Tysklind *et al.*, 2001).

Enfin Eriksson *et al.* (2001) ont mené une expérience sur 7 PBDE différents dissous dans un mélange méthanol:eau (80 :20) et exposés aux UV. Les résultats ont montré que plus la molécule possédait un grand nombre de brome plus elle se décomposait rapidement (tableau VI).

**Tableau VI :** Demi-vie des PBDE exposés aux UV dans un mélange méthanol : eau (Eriksson *et al.*, 2001).

BDE	Nombre de bromes	Demi-vie
47	4	12 j
77	4	16 j
99	5	2,4 j
138	6	1,2 j
183	7	1,2 j
203	8	5 h
209	10	30 min

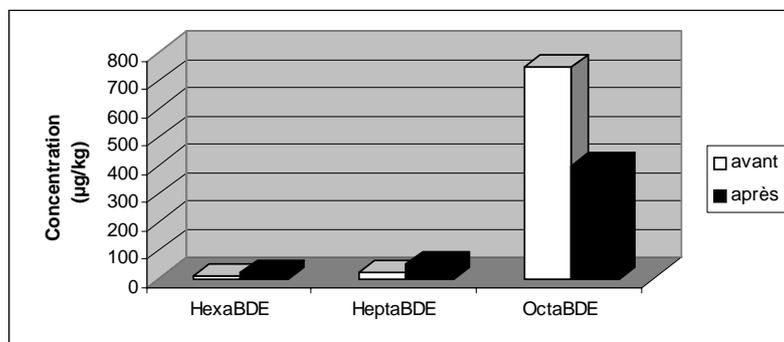
Les produits de dégradation du DeBDE qui possédaient six atomes de brome et plus étaient des PBDE alors que ceux contenant moins de six atomes de brome étaient des PBDF.

**Dégradation microbienne :** Les études sur ce sujet sont très peu nombreuses car les recherches entreprises jusqu'à aujourd'hui n'ont donné aucun résultat. Des études suédoises sur la capacité de bactéries anaérobies à dégrader le DeBDE en composés moins bromés dans les sédiments ont duré jusqu'à 2 ans sans rien observer (De Wit, 2000). Les mono, di et triBDE (composés faiblement bromés) sont connus pour être biodégradables mais ils ne sont pas utilisés comme source de carbone par les bactéries (Takase *et al.*, 1986 ; Schmidt *et al.*, 1993). Les données sont plus complètes sur les PCB puisque les recherches ont montré une déchloration de ces composés en mode anaérobie (Kuipers *et al.*, 1999).

#### *Les dégradations anthropiques*

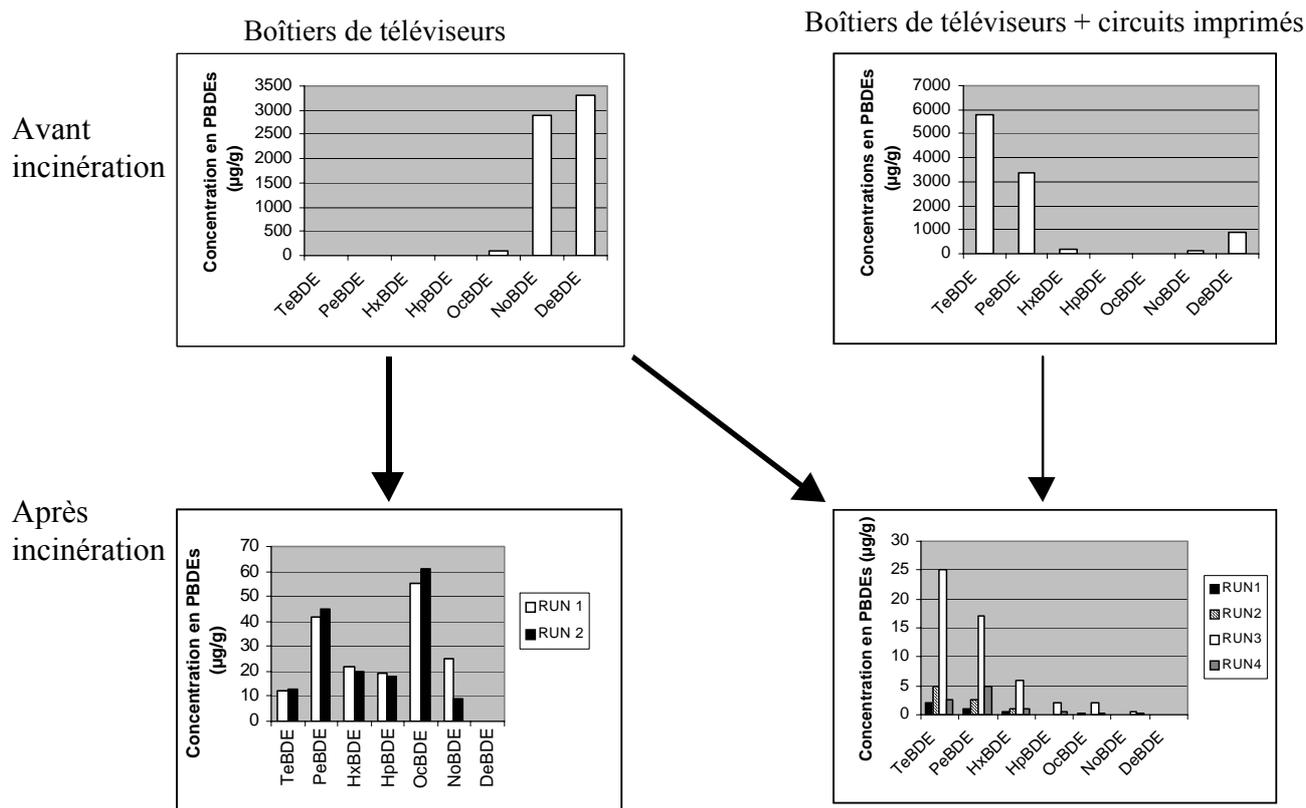
Les dégradations anthropiques résultent du recyclage et de l'incinération.

**Le recyclage :** Le recyclage, et notamment le recyclage des composés électroniques, est très important car ces composés coûtent chers. Cependant, cette transformation n'est pas sans effets sur le comportement des retardateurs de flamme. Des recherches ont été menées par Riess *et al.* (2000) sur les niveaux de PBDE, PBDD et PBDF dans des boîtiers de télévisions et d'ordinateurs avant et après incinération. Les boîtiers étaient préalablement broyés et la température de recyclage variait de 190 à 210°C suivant le polymère de constitution (High-Impact Polystyrène : PS-HI ou Acrylonitrile Butadiène Styrene : ABS). La plus forte augmentation de PBDD et PBDF a eu lieu dans les polymères ABS alors que dans les autres les concentrations n'ont quasiment pas bougé. En ce qui concerne les PBDE, la figure 10 indique que les concentrations d'octaBDE diminuent pendant le recyclage alors que l'hexa et l'heptaBDE augmentent légèrement.



**Figure 10 :** Concentrations de différents BDE avant et après recyclage (Riess *et al.*, 2000).

**L'incinération :** Les produits qui ne subissent pas de recyclage vont donc être soumis à une incinération. Or, le traitement thermique des BFR est connu pour être à l'origine d'une libération de dioxines et de furanes bromés (Buser, 1986). Cependant, Söderström et Marklund (2000) ainsi que Tange *et al.* (2001), ont montré que lors d'une combustion complète des déchets, les taux de dioxines et de furanes formés étaient quasiment indépendants des taux de bromes dans le combustible initial. Une étude a été menée par Sakai *et al.* (2001) sur les taux de PBDE, PBDD et PBDF dans les résidus après incinération de boîtiers de téléviseurs et de circuits imprimés. Avant l'incinération, les taux de PBDE étaient de  $6300 \mu\text{g g}^{-1}$  dans les boîtiers de téléviseurs et de  $11000 \mu\text{g g}^{-1}$  dans les circuits imprimés et tombaient après combustion à  $900^\circ\text{C}$  à  $180 \mu\text{g g}^{-1}$  dans les résidus de boîtiers de téléviseurs et à  $2,9 \mu\text{g g}^{-1}$  dans les mélanges de boîtiers de téléviseurs et de circuits imprimés. Une analyse plus précise des congénères a révélé de fortes concentrations de NoBDE (NonaBromoDiphenylEthers) et de DeBDE dans les boîtiers de téléviseurs et de fortes concentrations de BDE moins bromés (tetra à penta-BDE) dans les mélanges boîtiers et circuits imprimés avant combustion. Une diminution considérable des deux congénères (NoBDE et DeBDE) est observée après combustion des boîtiers au profit d'une augmentation des TeBDE, des PeBDE, des HxBDE, des HpBDE (HeptaBromoDiphenylEthers) et surtout des OcBDE (figure 11). Par contre, dans le cas du mélange, les composés majoritaires restent quasiment les mêmes.



**Figure 11 :** Présence de congénères de PBDE avant et après incinération d'un boîtier plastique de téléviseur (d'après Sakai *et al.*, 2001). *N.B. :* Un RUN correspond à l'incinération d'un échantillon.

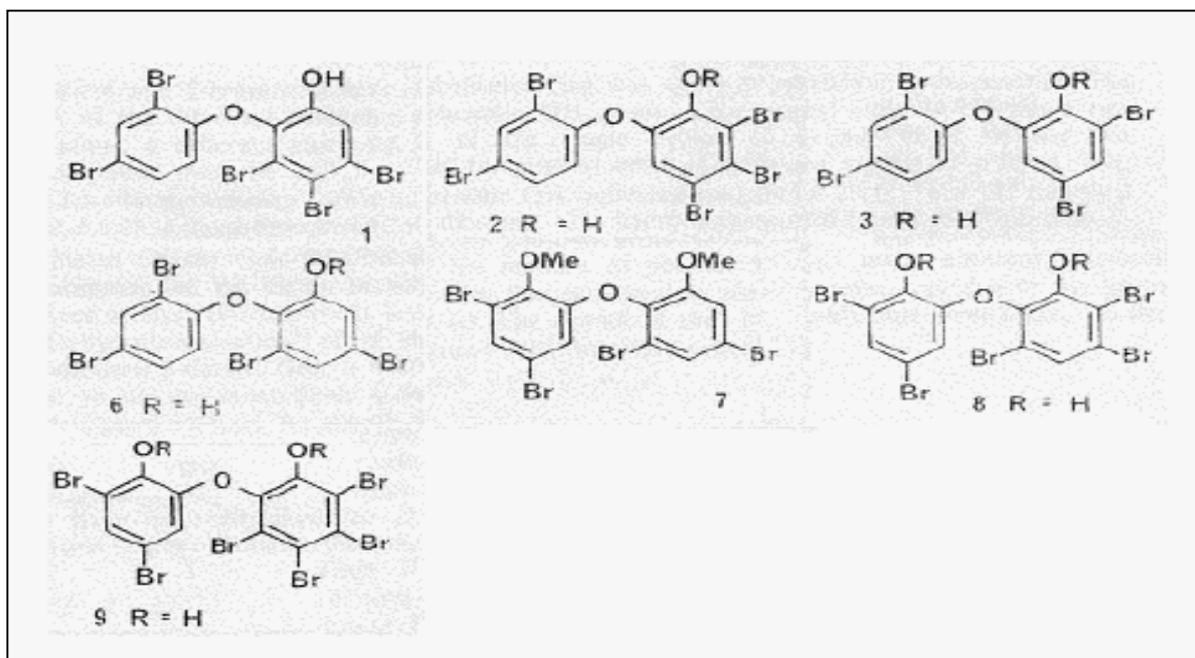
Il faut cependant noter que la formation des PBDD et des PBDF dépend des conditions de combustion. Dans un incinérateur moderne et bien contrôlé, l'émission de ces composés est très faible et n'engendre pas de réel risque environnemental (Öberg & Bergström, 1990). Par contre, une usine d'incinération mal entretenue et mal contrôlée peut-être à l'origine de la formation et du relargage de ces composés dans l'environnement (WHO/ICPS, 1994b).

### 1.2.1.3.ii. Distribution dans l'environnement

#### Les sources naturelles

Les PBDE ne sont pas uniquement des composés synthétiques. En effet, quelques bromodiphényl ethers hydroxylés sont produits par plusieurs éponges : *Dysidea herbacea*, *Dysidea chlorea* et *Phyllospongia foliascens* collectés en Micronésie (Carté & Faulkner, 1981) et *Dysidea herbacea* provenant d'Indonésie (Handayani *et al.*, 1997). Ces composés, dont certains sont représentés sur la figure 12, permettraient à l'éponge de se défendre contre les prédateurs. Une symbiose de bactéries avec ces éponges serait peut-être à l'origine de la production de

PBDE ; en effet, Vionov *et al* (1991) ont montré que la bactérie *Vibrio* sp. associée à l'éponge *Dysidea* sp. était capable de produire des bromodiphényléthers.



**Figure 12 :** Quelques PBDE produits naturellement par les éponges *Dysidea herbacea* (1, 2, 6), *Dysidea chlorea* (3) et *Phyllospongia foliascens* (7, 8, 9) (Carté & Faulkner, 1981).

### Dans l'air

La seule étude concernant les PBB dans l'air a porté sur trois usines de fabrication des PBB aux USA et seules des traces d'hexaBB (0,06 – 1,1 ng m<sup>-3</sup>) ont été découvertes (Stratton et Whitlock, 1979).

Plusieurs études ont été menées sur les PBDE dans les échantillons d'air et quelques-unes ont été recensées dans le tableau VII.

Dès 1979, du BDE-209 a été identifié dans des particules atmosphériques aux environs d'usines de fabrication de retardateurs de flamme bromés (Zweidinger *et al.*, 1979). Les analyses d'air n'ont cessé de montrer l'omniprésence des BFR dans l'environnement de nombreuses régions du monde avec parfois de fortes concentrations dans certaines zones (Watanabe *et al.*, 1995 ; Bergman *et al.*, 1997, 1999 ; Sjödin *et al.*, 1999a, Stratton et Whitlock, 1999; Bidleman *et al.*, 2001 ; Guoin *et al.*, 2002 ). Les niveaux de BDE-47 étaient supérieurs dans la phase gazeuse et les niveaux de BDE-99 et -100 étaient, eux, supérieurs dans la fraction particulaire ; ce qui est en accord avec leurs propriétés physico-chimiques (Bergander *et al.*, 1995). Ainsi, les PBDE les moins bromés, donc les moins lourds, peuvent être facilement transportés dans l'environnement.

**Tableau VII :** Concentrations de PBDE (pg m<sup>-3</sup>) mesurées dans l'air de différents sites mondiaux.

Milieu	Site	Congénère	Concentration (pg m <sup>-3</sup> )	Référence			
	Usine de fabrication de PBB - USA	hexaBB	60-1100	Stratton et Whitlock, 1999			
	Usine de recyclage de métal Japon Taiwan	Tri-tetra-penta et hexa-BDE	Japon : 7,1 – 21 Taiwan : 23 - 53	Watanabe <i>et al.</i> , 1992			
	Sites éloignés de sources de contamination en Suède	BDE-47 BDE-99 + BDE-100	0,7 – 6,3 0,4 – 1,6	Bergander <i>et al.</i> , 1995			
	Osaka, Japon	BDE-209	83 - 3060	Watanabe <i>et al.</i> , 1995			
	Canada Sibérie	Σ di-, tri-, tetra-, penta- et hexa-BDE	1 - 28 5	Alaee <i>et al.</i> , 1999			
Air extérieur	Site rural & Site semi-rural Angleterre	BDE-47 + BDE-99 + BDE-100	11 – 67 7 - 88	Peters <i>et al.</i> 1999a, 1999b			
	New-York Michigan Chicago	BDE-47 + -99 + -100 + -153 + -154	11,6 6,9 – 15,5 77,3	Dodder <i>et al.</i> , 2000			
	Canada et Sibérie	PBDE	10 - 2100	Bidleman <i>et al.</i> , 2001			
	Région des Grands Lacs USA	BDE-47+-99+100	4,4 - 77	Strandberg <i>et al.</i> , 2001			
	Ontario, Canada, Site rural	BDE-47+99	88 – 1250	Gouin <i>et al.</i> , 2002			
	Suède		BDE-47 BDE-99 BDE-100 BDE-209	6,3 1,6 0,4 ND	Palm <i>et al.</i> , 2002		
		Air intérieur	Usine	BDE-47 BDE-99 BDE-209		1250 2600 36500	
		Air intérieur	Bureau	Suède BDE-47 BDE-209		ND 9	Bergman <i>et al.</i> , 1997, 1999 Sjödin <i>et al.</i> , 1999a
		Air extérieur	Extérieur	BDE-47+-99+-209		ND	

Des études ont également pu être menées dans des espaces clos. Bergman *et al.* (1997) ont étudié les PBDE dans l'air de pièces contenant des ordinateurs ainsi que divers équipements électriques. Les résultats ont montré la présence de BDE-47, de BDE-99 et de TBBPA, preuve que ces composés sont bien relargués dans l'environnement de travail et que les êtres humains y sont exposés. D'autres études ont été menées en parallèle sur l'air extérieur, l'air dans un bureau et l'air dans une usine de démantèlement de matériel électronique (Bergman *et al.*, 1999 ; Sjödin *et al.*, 1999a). Les concentrations de PBDE dans l'usine étaient les plus importantes, les concentrations dans les bureaux étaient 400 à 4000 fois moins importantes et à l'extérieur étaient non détectables. Sjödin *et al.* (1999a) ont d'ailleurs montré que les concentrations les plus importantes dans l'usine étaient trouvées au niveau des destructeurs de plastiques.

Tous ces exemples permettent d'affirmer que les retardateurs de flamme bromés sont transportés dans les airs sur de longues distances et que certains endroits comme les usines de recyclage exposent leurs employés à des concentrations importantes de contaminants.

### **Dans l'eau**

Des recherches ont été menées sur des eaux de rivières, d'estuaires et marines au Japon mais n'ont pu mettre en évidence la présence de tels contaminants dans ces milieux (Environment Agency Japan, 1991). Une étude a montré la présence de mono-BDE aux alentours d'une usine de fabrication (US EPA, 1986) et Lucky *et al.* (2001) ont mis en évidence de faibles concentrations de PBDE dans le lac Ontario ( $6 \text{ pg l}^{-1}$ ). La présence de PBDE dans l'eau est difficile à démontrer notamment à cause de leur forte liposolubilité. Ces contaminants vont donc avoir plutôt tendance à se lier aux particules en suspension.

Ter Schure et Larsson (2002) ont toutefois mené une expérience sur les eaux de pluie en Suède. Les résultats ont montré la présence de PBDE dans les eaux avec une moyenne de  $209 \text{ pg l}^{-1}$ . Le composé majoritaire était le BDE-209 suivi du BDE-47 puis du BDE-99. Environ 65 % des PBDE étaient liés à des particules et très peu de congénères possédant un nombre de bromes supérieur à 5 étaient présents.

### **Dans les boues d'épuration**

Les études sur les teneurs en contaminants des boues d'épuration sont de première importance étant donnée que ces boues sont généralement épandues sur les champs permettant ainsi une introduction de ces contaminants dans les cultures ainsi que leur lessivage par les pluies. Plusieurs de ces études ont été recensées dans le tableau VIII.

Les concentrations de BFR obtenues sont très variables d'un site à l'autre et montrent leur présence dans les boues d'épurations de nombreux pays industrialisés. Les BDE-47, -99, -100 et -209 sont ceux les plus souvent retrouvés.

En 1988, des échantillons, collectés en Suède près d'une usine de retraitement, ont permis de mettre en évidence la présence de PBDE dans des boues d'épurations à des concentrations 10 fois plus importantes que celles présentes dans les sédiments (Nylund *et al.*, 1992). Un projet mené par l'agence de protection de l'environnement suédoise sur les contaminants dans les boues d'épurations a montré des concentrations en BDE-47, -99 et -100 équivalentes à celles trouvées par Nylund *et al.* mais a également mis en évidence des concentrations en BDE-209 mille fois supérieures à celles des autres PBDE ainsi que de fortes concentrations en octa- et nona-BDE (De Wit, 2000).

**Tableau VIII :** Concentrations de PBDE (ng g<sup>-1</sup>) mesurées dans les boues d'épuration de différents sites mondiaux.  
ps : concentration exprimée par rapport au poids sec, pf : concentration exprimée par rapport poids frais

Milieu	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> )	Référence
Boues de stations d'épuration	Allemagne	BDE-47+99+100	0,4 – 15 ps	Hagenmeier, 1992
	Suède	BDE-47+99+100	20 – 30 ps	Nylund <i>et al.</i> , 1992
	Suède	BDE-47+99+100 BDE-209	105 – 205 ps 70 – 270 ps	Sellström <i>et al.</i> , 1999
	Suède	BDE-47+99+100	31,5 ps (entrée) 372 ps (sortie)	De Boer <i>et al.</i> , 2000b
	Etats-Unis	BDE-47+99+100+153+154 BDE-209	1100 – 2290 ps 84,8 – 4890 ps	Hale <i>et al.</i> , 2001
	Allemagne	BDE-47+99+100+153+154 BDE-209	162 ps 35 ps	Kuch <i>et al.</i> , 2001
	Suède	BDE-47+85+99+100+138+153+154 BDE-209 BB-118+138+153+167+180+209	ND – 392 pf ND – 390 pf ND	Öberg <i>et al.</i> , 2002
	Pays-Bas (sortie station)	BDE-47 BDE-99 BDE-153 BDE-209 Σ 7 PBB	0,4 - 22 ps ND – 6,6 ps ND 24 – 350 ps ND	De Boer <i>et al.</i> , 2003
	Lac Supérieur USA	BDE-47 BDE-99 BDE-209	767 ps 1327 ps 510 ps	
	Lac Michigan USA	BDE-47 BDE-99 BDE-209	507 ps 706 ps 466 ps	Hale <i>et al.</i> , 2003
	Lac Ontario, Canada	BDE-47+99+100+153+154 BDE-209	637 ps 6930 ps	

Des recherches ont également été menées sur des boues d'épurations provenant d'une usine recevant les eaux usées de la décharge d'une industrie de plastiques. Des mesures étaient également effectuées sur les boues d'une usine de retraitement ne recevant pas ce genre de déchets. Les résultats ont montré que la somme des BDE-47, -99 et -100 était de 119 ng g<sup>-1</sup>, ps pour la première et de 45 ng g<sup>-1</sup>, ps pour la seconde (Sellström, 1999). De Boer *et al.* (2000b) ont également mis en évidence les différences de concentrations en PBDE avant et après une station de retraitement puisque avant la station la concentration en PBDE était de 31,5 ng g<sup>-1</sup>, ps et qu'après la station elle passait à 372 ng g<sup>-1</sup>, ps.

### Dans les sédiments

Les concentrations de PBB et PBDE obtenues dans plusieurs études sur les sédiments de rivières, d'estuaires et de mers ont été synthétisées dans le tableau IX.

**Tableau IX :** Concentrations de PBDE (ng g<sup>-1</sup>) mesurées dans les sédiments de rivières, d'estuaires et marins de différents sites mondiaux. ps : concentrations exprimées en poids sec.

Milieu	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Référence
	Japon	Tetra- + Penta-BDE BDE-209	21-59 <25 – 11600	Watanabe <i>et al.</i> , 1986, 1987, 1995 ; Environment Agency Japan, 1991
	Japon	Σ tetra, penta et hexa-BDE BDE-209	11-30 33-375	Watanabe et Tatsukawa, 1990
	Pays-Bas	BDE-47	11-36	De Boer et Dao, 1993
		BDE-99	ND-33	
		BDE-47	0,3-7,1	De Boer <i>et al.</i> , 2000b
		BDE-99	ND-5,5	
		BDE-153	ND-5	
		BDE-209	ND-510	
		BDE-209	32	Klamer <i>et al.</i> 2001
	Suède amont-aval usine de plastiques	BDE-47+-99+-100	14,1-2250	Sellström, 1996, 1999
	Suède amont-aval usine de textiles	BDE-47 + -99 + -100 BDE-209	ND-92 ND-11640	Sellström <i>et al.</i> , 1998a
	Danemark	Σ BDE (47+99+100+153) BDE-209	0,07 – 2,58 <1,3 – 8,1	Christensen et Platz, 2001
	Angleterre : Site de référence	BDE-47 BDE-99 BDE-100	<0,4 <0,6 <0,4	
Sédiments de rivières	Proche d'une usine fabriquant des BFR	BDE-47	<0,3 – 368	Allchin <i>et al.</i> , 1999
		BDE-99	<0,6 - 898	
		BDE-100	<0,4 – 9,1	
	Proche d'une usine fabriquant des mousses	BDE-47	1,2 – 24	
		BDE-99	0,6 – 46	
		BDE-100	<0,4 – 4,2	
	Proche d'une usine fabriquant du caoutchouc et des pneus	BDE-47	Avant l'usine : <0,3 après : 1,7	
		BDE-99	Avant l'usine : <0,6 après : 3,5	
		BDE-100	Avant l'usine : <0,4 après : <0,4	
	Proche d'une déchetterie	BDE-47	0,4 – 4,2	
		BDE-99	<0,6 – 5,7	
		BDE-100	<0,4 – 1,2	
	Proche d'une usine utilisant du pentaBDE	BDE-47	2,4 – 3,6	
		BDE-99	2,9 – 4,7	
		BDE-100	<0,4 – 9,2	
Proche d'un site recevant comme déchets des voitures	BDE-47	21		
	BDE-99	36		
	BDE-100	<0,4		
Tous ces sites	PBB	ND		

Tableau IX (suite)

Milieu	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Référence	
Sédiments de rivières	Etats-Unis	BDE-47	52,3	Hale <i>et al.</i> , 2001	
	Etats-Unis (proche usine de fabrication de mousses)	BDE-47	132	Hale <i>et al.</i> , 2002	
	Espagne		BDE-47	0,1 – 0,2 ps	Eljarrat <i>et al.</i> , 2004
			BDE-100	0,1 ps	
			BDE-118	ND – 0,3 ps	
			BDE-154	ND – 2,9 ps	
			BDE-153	0,1 – 7,8 ps	
		BDE-183	0,1 – 22,8 ps		
		BDE-209	2,1 – 41,7 ps		
Sédiments estuariens	Estuaires européens	BDE-47 + -99 BDE-209 Hexa-BB	< 2 ps ND-1700 ps 0,013-0,056 ps	Kierkegaard <i>et al.</i> , 1996 ; Anonyme, 1997 ; Van Zeijl, 1997 ; Sellström <i>et al.</i> , 1999	
Sédiments marins	Baltique	BDE-47 + -99	0,5-1,7 ps	Nylund <i>et al.</i> , 1992	
		BDE-47 + -99 + -100	ND-1,1 ps	Jonsson et Kankaanpää, 1999	
		BDE-47 + -99	0,21-1,1 ps	Sellström <i>et al.</i> , 1999	
	Danemark	Σ BDE (47+99+100+153) BDE-209	0,06 – 3,7 ps ND – 21,5 ps	Christensen et Platz, 2001	

Les premières données sur la contamination des sédiments par les retardateurs de flamme proviennent du Japon. De 1981 à 1983, des échantillons de sédiments ont été collectés dans différents sites près d'Osaka au Japon (Watanabe *et al.*, 1986, 1987, 1995 ; Environmental Agency Japan, 1991). Le BDE-209 était le congénère trouvé en plus grandes concentrations mais était également celui qui avait la plus grande variabilité dans la rivière. Ce congénère a également été détecté dans l'estuaire mais pas dans les sédiments marins.

L'étude menée sur des sédiments de rivières des Pays-Bas a montré des concentrations de PBDE relativement similaires à celles des études réalisées au Japon (De Boer et Dao, 1993). Dans ces échantillons, le penta-BDE était supérieur au tetra-BDE comme dans le mélange technique utilisé par les industries. Ceci semble indiquer que la contamination des milieux se fait par le biais des industries qui emploient ces produits. Ils ont également mis en évidence que les PBDE semblaient mieux s'adsorber aux sédiments que les PCB. De Boer *et al.* (2000b) ont analysé des sédiments prélevés en 1999 sur 17 sites différents des Pays-Bas. Ils ont observé qu'il existait une grande variation des concentrations en PBDE sur ces différents sites. Ils expliquaient ceci par le fait que les niveaux de contaminants dans les sédiments étaient dépendants du contexte environnemental. Klamer *et al.* (2001) ont trouvé, toujours dans les sédiments de rivières des Pays-Bas, des concentrations de BDE-209 moins importantes que celles mesurées par De Boer.

Deux études ont été menées en Suède pour étudier les concentrations en contaminants en aval et en amont d'industries utilisant des BFR. Dans la première étude, des échantillons de surface ont été prélevés en amont et en aval d'une usine de plastiques utilisant du TBBPA et les taux de BDE-47, -99 et -100 ont été étudiés (Sellström, 1996, 1999). Pour les trois congénères, les concentrations étaient supérieures à l'aval de l'usine par rapport à l'amont et les taux relatifs dans les boues d'épuration et dans les sédiments de surface analysés étaient tout à fait similaires au produit technique : le Bromkal 70-5 DE (Sellström, 1996). Ceci indique que l'industrie plastique est la principale source de contamination par ces substances. Dans la seconde étude, des échantillons de surface ont été collectés en 1995 sur huit sites le long de la rivière Viskan en Suède où de nombreuses industries textiles sont implantées. Ces industries utilisent différents BFR pour leur production de textiles. Les BDE-47, -99, -100 et -209 ont été mesurés dans les sédiments et les résultats ont montré que leurs concentrations augmentaient sur les points situés en aval des usines (Sellström *et al.*, 1998a). Les plus bas niveaux étaient trouvés en amont des industries.

Au Danemark, les concentrations de PBDE mesurées dans les sédiments étaient relativement faibles mais montraient toujours une prédominance du BDE-209.

Allchin *et al.* (1999) ont mené une étude sur les PBDE dans les sédiments et les poissons de différentes rivières et estuaires du Royaume-Uni. Les sédiments ont été collectés en amont et en aval de sources suspectes incluant une fabrique de penta-BDE et d'octa-BDE, différentes industries utilisant du penta-BDE, différentes décharges recevant des déchets suspectés contenir des PBDE et un site de référence. De fortes concentrations de BDE-47, -99, de formules commerciales Great Lakes DE-71™ (contenant majoritairement du penta-BDE) et Great Lake 79™ (contenant majoritairement de l'octa-BDE) ont été trouvées dans des sédiments aux alentours ou en aval des industries de Newton Aycliffe (fabriquant du penta-BDE et de l'octa-BDE). La plus forte concentration de formule commerciale Great Lake 83™ (contenant majoritairement du deca-BDE) a été trouvée en aval de l'usine de retraitement de la rivière Calder, mais également en aval d'une usine de fabrication de BFR sur la rivière Skerne. L'usine de fabrication de penta-BDE et d'octa-BDE de Newton Aycliffe semble donc être la source majeure de PBDE sur les rivières Tees et Skerne incluant leur estuaire qui se situe à 40km en aval de l'usine. D'autres sources sont également impliquées le long des rivières anglaises malgré qu'elles n'aient pu être identifiées, des concentrations de BDE-99 étaient similaires et quelque peu supérieures à celles du BDE-47 dans la plupart des sédiments. Dans la même étude, les PBDE ont été trouvés dans le foie et les muscles de différentes espèces de poissons des mêmes rivières et estuaires.

Deux études menées aux Etats-Unis par Hale *et al.* (2001, 2002) ont mis en évidence des concentrations de BDE-47 plus importantes aux abords d'une usine de fabrication de mousses que dans une rivière ne recevant pas d'apports de ce type. Ceci met bien en évidence le fait que les usines sont à l'origine du rejet de ces molécules.

Enfin, Eljarrat *et al.* (2004) ont recherché plusieurs congénères de PBDE dans des sédiments d'une rivière espagnole et ont montré une prédominance des congénères les plus bromés et notamment du BDE-209.

Une étude sur différents contaminants collectés à l'embouchure de rivières majeures européennes a été menée (Kierkegaard *et al.*, 1996 ; Anonyme, 1997 ; Van Zeijl, 1997 ; Sellström *et al.*, 1999). De hauts niveaux de BDE-47 et -99 ont été trouvés dans deux rivières de Grande-Bretagne (Humber et Mersey) et dans deux rivières des Pays-Bas. De l'hexa-BB a été trouvé en grandes concentrations en Seine, sur trois rivières des Pays-Bas, sur la rivière Schelde en Belgique, sur la rivière Forth au Royaume-Uni et sur la rivière Ems en Allemagne. Les niveaux de BB-209 étaient les plus importants en Seine. Le BDE-209 était présent en plus grande concentration dans la rivière Mersey suivi par la rivière Schelde et la rivière Liffey (Irlande). Dans la plupart des échantillons, les niveaux étaient inférieurs à 20 ng g<sup>-1</sup>, ps (Sellström *et al.*, 1999). Les niveaux de BDE-47 et -99 étaient également considérablement moins élevés que ceux du BDE-209.

Plusieurs études ont été menées dans les sédiments de la mer Baltique et les concentrations obtenues étaient très similaires (Nylund *et al.*, 1992 ; Jonsson et Kankaanpää, 1999 ; Sellström *et al.*, 1999). En mer Baltique, une tendance à l'augmentation des concentrations en PBDE a été observée entre 1973 et 1990. Cette tendance correspond à la tendance temporelle de concentration en PBDE observée dans les œufs de guillemots (Sellström *et al.*, 1990). En effet les niveaux de PBDE dans les couches de sédiments de la mer Baltique (Borholm Deep) diminuent avec l'augmentation de la profondeur (Nylund *et al.*, 1992 ; Sellström, 1996 ). A une profondeur de 5 mm , les niveaux de BDE-47 et -99 étaient de 1,6 et 1,1 ng g<sup>-1</sup>, perte au feu (perte au feu = (masse avant calcination) - (masse après calcination)). Sous 40 mm, le penta-BDE n'a pas été détecté mais le tetra-BDE était à 0,1 ng g<sup>-1</sup>, perte au feu. L'âge des différentes couches a été évalué et les résultats ont montré une augmentation exponentielle des concentrations : entre 1940 et 1960, les niveaux sont restés à peu près constants mais au début des années 70, les concentrations ont commencé à augmenter de façon dramatique. En effet, il existe un délai avant l'apparition des PBDE dans le milieu car il peut se passer plusieurs

années avant que les composés atteignent le sédiment. Les niveaux de PBDE dans ces sédiments en 1987 était six fois supérieurs à ceux de 1980 ce qui signifie qu'aujourd'hui, les niveaux de PBDE ont atteint les niveaux de PCB (Nylund *et al.*, 1992).

Les concentrations de PBDE mesurées par Christensen et Platz (2001) étaient plus importantes dans les sédiments marins que dans les sédiments de rivière mais le BDE-209 restait largement majoritaire.

Les congénères de PBDE peu bromés (et en particulier les penta-BDE) ont été trouvés dans les couches superficielles de sédiments correspondant au début des années 60 dans des échantillons collectés en mer de Wadden, à Drammenfjord aux Pays-Bas et dans le lac Woserin en Allemagne (Zegers *et al.*, 2000). Le fait de ne pas trouver de BDE-209 dans cette couche de sédiment (alors qu'il s'agit en général du composé le plus rencontré) semble normal puisque ce congénère n'a été employé qu'à partir des années 70.

**Ainsi, toutes les recherches menées sur des sédiments, que ce soit en rivière, en estuaire ou en mer, donnent des résultats assez différents selon les sites mais surtout montrent une prédominance du BDE-209.**

### **Chez les organismes**

#### ***Ecosystèmes terrestres (Tableau X)***

##### ***Oiseaux :***

Des échantillons de muscles de sternes juvéniles (*Sturnus vulgaris*) âgées de 3-4 semaines et collectées depuis cinq sites suédois différents contenaient des PBDE dont le profil était similaire à celui du Bromkal 70-5 DE (Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1996). Des œufs de faucons pèlerins (*Falco peregrinus*) provenant de trois populations différentes ont été étudiés entre 1988 et 1999 (Sellström *et al.*, 2001). Tous les congénères de PBDE ont été trouvés, même le BDE-209 qui était plus important dans la population sauvage que dans la population en captivité. Les congénères dominants étaient les BDE-99 et -153. La présence de BDE-209 dans les œufs de la population sauvage montre que ce composé est présent dans l'environnement et peut, malgré sa grande taille, passer les membranes cellulaires..

Une étude sur le poulet, réalisée par Huwe *et al.* (2002), a montré la présence de PBDE dans des poulets du Nord du Dakota et dans ceux de l'Arkansas. Ces valeurs étaient inférieures à celles généralement trouvées dans les poissons et dans les mammifères se nourrissant de poissons mais supérieures à celles des autres animaux terrestres. De plus, le BDE-99 était le

congénère dominant. Dans les autres études menées sur les poulets, ces animaux avaient toujours les concentrations de PBDE les plus basses, que ce soit dans les muscles ou dans le foie (Eriksson *et al.*, 2002 ; Ohta *et al.*, 2002).

### ***Mammifères :***

Plusieurs études ont été menées sur des organismes consommés régulièrement dans l'alimentation de divers pays. Les concentrations les plus importantes en PBDE ont toujours été mesurées dans les échantillons de porc (Eriksson *et al.*, 2002 ; Ohta *et al.*, 2002). Le programme de surveillance environnemental suédois a demandé une analyse des BDE -47, -99 et -100 dans les muscles de lapin (*Oryctolagus cuniculus*), de souris (*Alces alces*) et de rennes (*Rangifer tarandus*). Aucun PBDE n'a été détecté dans le lapin et les niveaux moyens dans les souris et dans les rennes étaient faibles (Jansson *et al.*, 1993 ; Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1996).

L'analyse d'échantillons de lait de vaches allemandes et suédoises a révélé la présence de PBDE et les congénères présents étaient similaires à ceux du Bromkal 70-5 DE (Krüger, 1988 ; Darnerud *et al.*, 2000). Des PBB ont également été découverts mais à des concentrations bien inférieures à celles trouvées dans le lait maternel. Une expérience a d'ailleurs montré que les enfants consommant du lait maternel absorbaient beaucoup plus de PBB que les adultes consommant du lait de vache :  $0,01 \mu\text{g kg}^{-1} \text{j}^{-1}$  contre  $0,00002 \mu\text{g kg}^{-1} \text{j}^{-1}$  (WHO/ICPS, 1994a).

**Tableau X :** Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des organismes terrestres. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.

Organisme	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> )	Référence
Sternes	Suède	BDE-47+-99+-100	5,7-13 pl	Sellström <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström, 1996
Faucons pèlerins	Suède	BDE-209	56-1300 pf (pop. sauvage) 6-19 pf (pop. captivité)	Sellström <i>et al.</i> , 2001
Poulets	Etats-Unis	Σ17 BDE	1,8-39,4 pl	Huwe <i>et al.</i> , 2002
Foie de poulet			0,06 pf	
Foie de porc	Suède	BDE-47	0,22 pf	Eriksson <i>et al.</i> , 2002
Foie d'agneau			0,09 pf	
Porc			63,4 pf	
Bœuf	Japon	Tri à hexaBDE	16,2 pf	Ohta <i>et al.</i> , 2002
Poulet			6,25 pf	
Lapin			ND	Jansson <i>et al.</i> , 1993 ;
Souris	Suède	BDE-47+-99+-100	1,7 pl	Sellström <i>et al.</i> , 1993 ;
Renne			0,5 pl	Sellström, 1996
Lait de vache	Allemagne	PBB ΣBDE-47+-99+-100+-153+-154	0,001-0,053 pl 2,5-4,5 pl	Krüger, 1988
Lait de vache	Suède	ΣBDE-47+-99+-100+-153+-154	0,36 pl	Darnerud <i>et al.</i> , 2000
Ours polaire ♂	Spitzberg	Σ BDE-47, 66, 85, 99, 100, 154	27,4 pl	Wolkers <i>et al.</i> , 2004
Ours polaire ♀			45,6 pl	

Des ours polaires mâles et femelles provenant du Spitzberg ont également été étudiés afin d'évaluer leur contamination par les PBDE (Wolkers *et al.*, 2004). Le BDE-47 était le seul congénère de PBDE détecté et les concentrations trouvées étaient plus importantes chez les femelles que chez les mâles.

### ***Ecosystèmes d'eau douce (Tableau XI)***

#### ***Oiseaux :***

Des analyses d'échantillons de muscles provenant de balbuzards (*Pandion haliaetus*) trouvés morts dans différents endroits de la Suède ont permis de découvrir de fortes concentrations de BDE-47, BDE-99 et BDE-100 avec le BDE-47 dominant (86 %). Ces oiseaux se nourrissant de poissons, les fortes concentrations en PBDE trouvées reflètent une biomagnification et/ou une consommation de poissons contaminés pendant leur migration vers l'Afrique (Jansson *et al.*, 1993 ; Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1996).

#### ***Invertébrés :***

Plusieurs études ont été réalisées sur les moules d'eau douce et les bigorneaux et le BDE-47 était toujours le congénère majoritaire (Watanabe *et al.*, 1987, De Boer et Dao, 1993, Allchin *et al.*, 1999 ; Bayen *et al.*, 2003 ; De Boer *et al.*, 2003 ; Covaci *et al.*, 2004). En Angleterre, sur un site considéré « de référence » et aux Pays-Bas, les PBB n'ont jamais été détectés dans les moules et les bigorneaux (Allchin *et al.*, 1999). Seule une étude a été réalisée sur les PBDE dans les grenouilles. Les BDE-47 et -99 ont été détectés mais les taux obtenus étaient relativement peu élevés (Ter Schure *et al.*, 2002)

**Tableau XI :** Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des organismes provenant d'écosystèmes d'eau douce. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, ps : concentration exprimée en fonction du poids sec, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.

Organisme	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> )	Référence
<b>Oiseaux</b>				
Balbuzards	Suède	BDE-47+-99+-100	2100 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström, 1996
<b>Invertébrés</b>				
Moules	Japon	BDE-47	15 pf	Watanabe <i>et al.</i> , 1987
Moules	Angleterre	BDE-47	18 – 44 pl	De Boer et Dao, 1993
Moules	Angleterre site référence	BDE-47+-99+-100	9,4 pf	Allchin <i>et al.</i> , 1999
Bigorneaux		PBB	ND	
Moules	Singapour	BDE-47+-99+-100	5,2 pf	Bayen <i>et al.</i> , 2003
		PBB	ND	
		BDE-47	0,71 – 11ps	
		BDE-49	0,11 – 0,99 ps	
		BDE-66	0,06 – 0,59 ps	
		BDE-99	0,57 – 18 ps	
Moules	Pays-Bas	BDE-100	0,13 – 5,3 ps	De Boer <i>et al.</i> , 2003
		BDE-153	ND – 0,64 ps	
		BDE-154	0,05 – 0,45 ps	
		BDE-47	<1 – 17 ps	
		BDE-85	<0,5 ps	
		BDE-99	<0,6 – 11 ps	
Moules	Belgique	BDE-138	<1,1 ps	Covaci <i>et al.</i> , 2004
		BDE-153	<1,1 – 1,5 ps	
		BDE-209	ND	
		7 PBB	ND	
Moules zébrées	Belgique	Σ 10 BDE	0,3 – 1,8 pf	Covaci <i>et al.</i> , 2004
Foies de grenouilles	Suède	BDE-47	0,03-0,12 pf	Ter Schure <i>et al.</i> , 2002
		BDE-99	ND-0,18 pf	
<b>Poissons</b>				
Muscle de brochet	Suède (proches industries textiles)	Tri à hexaBDE	27000 pl	Andersson et Blomkvist, 1981
Foie de brochet			110000 pl	
Muscle d'anguille			17000 pl	
Muscle de corégones	Suède	BDE-47+-99+-100	26 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1993 ;
Muscles d'ombles			520 pl	Sellström <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström, 1996
Muscles de brochets			180-210 pl	
Muscles de truites			280-1200 pl	
Muscles de brèmes			100 – 170 pl	
Muscles de perches			24000 pl	
Muscles d'ombles	Lacs Groenland	Σ BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154	0,3 pf	Vives <i>et al.</i> , 2004
Foies d'ombles			0,9 pf	
Muscles de brochets	Suède	BDE-47+-99+-100 BDE-209	ND-4600 pl traces	Sellström <i>et al.</i> , 1998a
Muscles de brochets	Suède	BDE-47+-99+-100	85-170 pl	Kierkegaard <i>et al.</i> , 1993
Muscles de brèmes	Pays-Bas	BDE-47	0,2 – 130 ps	De Boer <i>et al.</i> , 2003
		BDE-85	ND – 0,2 ps	
		BDE-99	ND	
		BDE-138	ND	
		BDE-153	ND – 4,1 ps	
		BDE-209	ND – 0,3 ps	
Muscles de perches	Lettonie	7 PBB	ND	Olsson <i>et al.</i> , 1999
		BDE-47	6,4 – 10 pl	

Tableau XI suite

Organisme	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Référence
Muscles de carpes	Etats-Unis	Tetra à hexaBDE	13-23 pf	Loganathan <i>et al.</i> , 1995
Muscles de carpes	USA Proche usine de fabrication de PBDE	Σ BDE-47, 99, 100, 153, 154 BDE-209	6,2 – 20 pf ND	Dodder <i>et al.</i> , 2002
Muscles de carpes Muscles d'anguilles	Belgique	Σ 10 BDE	<0,1 – 6 pf 1,98 – 14 pf	Covaci <i>et al.</i> , 2004
Muscle d'anguilles	Allemagne	BDE-47	1700 pl	De Boer, 1990
Muscles de Truites	Etats-Unis	BDE-47+-99+-100	2700 pl	Asplund <i>et al.</i> , 1999
Muscles de Truites	Etats-Unis	Di à heptaBDE	140-540 pl	Alaee <i>et al.</i> , 1999
Corégones			36-165 pl	
Truites naturelles	Suisse	Σ7BDE	0,74-1,3 pl	Zennegg <i>et al.</i> , 2003
Truites d'élevage			12-24 pl	
Muscles de Truites Foies de truites	Lacs Europe	Σ BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154	0,07 – 1,1 pf 0,1 – 11 pf	Vives <i>et al.</i> , 2004
Saumons	Etats-Unis	BDE-47+-66+-99+-100+- 153+-154	773-8120 pl	Manchester-Neesvig <i>et al.</i> , 2001
Muscle de limande			<1 – 9,6 pf	
Foie de limande			59 – 685 pf	
Foie de merlan			123 pf	
Muscle de flet	Angleterre	BDE-47+-99+-100	1,2 – 27,5 pf	Allchin <i>et al.</i> , 1999
Foie de flet			17,1 – 1532 pf	
Muscle de plie			0,6 – 12,1 pf	
Foie de plie			21,6 – 187 pf	
Tous ces échantillons		PBB	ND	
Foie de plie	Allemagne	BDE-47	12 pl	De Boer et Dao, 1993
	Angleterre	BDE-47	41 pl	
Foies de flets	Pays-Bas	BDE-47 BDE-99	15 – 280 pl <2 – 24 pl	De Boer <i>et al.</i> , 2001
		BDE-47	0,4 – 20 ps	
		BDE-85	ND	
		BDE-99	ND – 4,6 ps	
Muscles de flets	Pays-Bas	BDE-138 BDE-153 BDE-209 7 PBB	ND ND – 1,3 ps ND ND	De Boer <i>et al.</i> , 2003
Foie de barbue	Rivières Espagne	Σ 16 PBDE BDE-209	0,2 – 279,2 pf ND	Eljarrat <i>et al.</i> , 2004

### Poissons :

En 1979-1980, l'analyse de poissons échantillonnés le long de la rivière Viskan, où sont implantées de nombreuses industries textiles employant des BFR, a révélé la présence de PBDE (des TriBDE aux HexaBDE) alors qu'en 1977 des analyses sur des poissons des mêmes sites n'avaient révélé aucune contamination (Andersson et Blomkvist, 1981). Ces hauts niveaux de PBDE (-47, -99 et -100) ont été confirmés en 1987 sur les mêmes sites (Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1996). Le BDE-47 représentait 65 à 96 % du total des PBDE. Lors de ces études, de nombreux poissons ont été collectés (brochet, perche, brème, anguille, tanche, truite) et les grandes différences de concentrations en PBDE entre les espèces n'ont pas permis de localiser les sources de pollutions sur la rivière. En 1995, toujours sur la rivière Viskan, une étude a été

menée sur le brochet. Au fur et à mesure que les poissons étaient capturés en aval d'industries, leurs concentrations en PBDE augmentaient (Sellström *et al.*, 1998a). Le BDE-209 n'a été trouvé qu'à l'état de traces dans quelques poissons. Les plus faibles concentrations ont été trouvées en amont des industries.

Une étude suédoise a été menée sur les corégones (*Coregonus spp.*) du lac Storvindeln, sur les ombles arctiques du lac Vättern (situé dans une zone recevant de nombreuses sources municipales et industrielles) et sur les truites, les brochets, les brèmes et les perches de différents sites le long du canal Dalslands (Jansson *et al.*, 1993 ; Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1996). Les échantillons de corégones contenaient les plus faibles concentrations de PBDE. Le BDE-47 était le congénère majoritaire. Des PBDE ont également été détectés dans des ombles du Groenland mais à des niveaux moins importants (Vives *et al.*, 2004). Les valeurs trouvées pour les brochets sont assez comparables à celles trouvées dans les brochets du lac Bolmen (Kierkegaard *et al.*, 1993). De Boer *et al.* (2003) ont mesuré des concentrations maximums de PBDE similaires dans les brèmes des Pays-Bas. Les concentrations de PBDE mesurées dans des muscles de perches en Lettonie étaient nettement inférieures à celles mesurées dans les perches de Suède (Olsson *et al.*, 1999).

Loganathan *et al.* (1995) ont trouvé des Te-, Pe- et HexaBDE dans des carpes (*Cyprinus carpio*) de la rivière Buffalo à New-York (zone située à proximité des Grands Lacs et ayant un environnement affecté). Le BDE-47 était le congénère dominant (94 à 96 % du total). Les niveaux de PBDE mesurés dans les carpes pêchées près d'une usine de fabrication de PBDE aux Etats-Unis avaient des concentrations assez similaires à celles de l'étude de Loganathan *et al.* (1995) alors que les concentrations mesurées dans les carpes en Belgique, dans une zone sans contamination particulière, étaient beaucoup moins importantes (Covaci *et al.*, 2004).

Dans les anguilles (*Anguilla anguilla*) des rivières et lacs allemands ainsi que dans une zone proche d'une usine de textiles, le BDE-47 atteignait d'importants niveaux (De Boer, 1990 ; Andersson et Blomkvist, 1981) alors que les niveaux mesurés dans les anguilles de Belgique étaient nettement moins importants (Covaci *et al.*, 2004). Différentes espèces de poissons d'eau douce du nord du Rhin contenaient également des PBDE (Krüger, 1988). Zennegg *et al.* (2003) ont mis en évidence la présence de PBDE dans des filets de corégones (*Coregonus sp.*) provenant de lacs suisses et de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) provenant de fermes d'élevage. Les concentrations obtenues dans les truites étaient bien inférieures à celles mesurées par Asplund *et al.* (1999) qui ont découvert des tri-, tetra-, penta- et hexaBDE dans les truites (*Oncorhynchus mykiss*) du lac Michigan. Les truites des Grands Lacs (*Salvelinus namaycush*) étaient également contaminées par les PBDE que ce soit dans le lac Ontario, dans le lac Huron

ou dans le lac Supérieur (Alaee *et al.*, 1999). Les poissons du lac Michigan contenaient six fois plus de PBDE que les saumons de la Baltique (7 ng g<sup>-1</sup>, pf). En comparaison, dans les truites suisses, naturelles ou d'élevage, les concentrations de PBDE étaient très faibles. Une autre étude sur les saumons de lac Michigan (*Oncorhynchus kisutch* et *Oncorhynchus tshawytscha*) a montré la présence de PBDE à une concentration moyenne moins importante que la concentration en PCB qui était de 43100 ng g<sup>-1</sup> de lipides (Manchester-Neesvig *et al.*, 2001).

Au Royaume-Uni, Allchin *et al.* (1999) ont étudié des limandes, des merlans; des flets et des plies provenant d'estuaires recevant des rejets d'usines fabricant des PeBDE et des OctaBDE, de différentes usines utilisant du PeBDE et de différentes décharges recevant des déchets suspectés contenir des PBDE. La source majeure de contamination était l'usine de fabrication. Le congénère dominant était le BDE-47 et particulièrement dans les zones où le sédiment était fortement contaminé. De plus, les concentrations étaient toujours plus importantes dans les foies que dans les muscles des différents individus. En revanche, aucun PBB n'a été détecté. De Boer *et al.* (1993, 2001, 2003) ont mesuré les concentrations de PBDE et PBB dans de nombreux poissons et les valeurs obtenues étaient très variables selon les sites. Les PBB n'ont pas été détectés.

## ***Ecosystèmes marins (Tableau XII)***

### ***Oiseaux***

Dans les années 80, des Di et des Tri-BDE avaient été identifiés dans des tissus et des œufs de « bec en ciseaux » noirs (*Rynchops nigra*) aux Etats-Unis mais aucune analyse quantitative n'avait pu être menée à cause de l'absence de standards (Stafford, 1983).

Quelques années plus tard, Jansson *et al.* (1987) ont montré la présence de PBDE dans les aigles de mer. Ses études ont également porté sur les guillemots collectés de 1979 à 1981 en mer Baltique, en mer du Nord et au Spitzberg. Les concentrations les plus importantes de PBDE ont été mesurées en mer Baltique. Les œufs de guillemots ont également été étudiés par Sellström (1996) qui a montré que les concentrations de PBDE dans ces œufs avaient augmenté depuis les années 70 mais que ces dernières années, la tendance était à la diminution. Law *et al.* (2002) ont mené une étude sur des cormorans du nord-est de l'Angleterre se nourrissant de poissons contaminés par des PBDE. Les congénères dominants étaient les BDE-47, -99 et -100. Des BDE-47 et -99 ont été détectés dans des échantillons de foies et d'intestins de goéland bourgmestre (Herzke *et al.*, 2003). Des PBB étaient également présents mais n'ont pas pu être identifiés.

**Tableau XII :** Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des organismes provenant d'écosystèmes marins. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, ps : concentration exprimée en fonction du poids sec, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.

Organisme	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Références
<b>Oiseaux</b>				
Aigles de mer	Mer Baltique		350 pl	
Guillemots	Mer Baltique	PBDE	370 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1987
	Mer du Nord		80 pl	
	Spitzberg		130 pl	
Cormorans	Angleterre	BDE-47+-99+-100	1,8-140 pf	Law <i>et al.</i> , 2002
Foies de goélands	Spitzberg	BDE-47+-99	0,5-22 pf	Herzke <i>et al.</i> , 2003
Intestins de goélands			70 pf	
<b>Poissons et fruits de mer</b>				
Moules	Mer de Wadden	BDE-47	40 pl	De Boer et Dao, 1993
Moules	Danemark	Σ BDE (47+99+100+153)	0,1 – 0,8 pf	Christensen et Platz, 2001
Moules	Pays-Bas	BDE-47	0,9 – 4,3 ps	De Boer <i>et al.</i> , 2003
		BDE-85	ND	
		BDE-99	0,3 – 1,6 ps	
		BDE-138	ND	
		BDE-153	ND	
		BDE-209	ND – 4,9 ps	
		7 PBB	ND	
Moules			0,11 pf	
Étoiles de mer	Groenland	Σ BDE (47+99+100+153)	1,4 pf	Christensen <i>et al.</i> , 2002
Chaboisseau, morue, loup, raie			1,2 – 12 pf	
Hépatopancréas de crabes	Canada	BDE-47+-99	100-350 pl	Ikonomou <i>et al.</i> , 1999
Etoile de mer	Mer du Nord	BDE- 28+47+99+100+153 +154	7,7 – 233,9 pl	Boon <i>et al.</i> , 2002
Crabe			16,3 – 304,7 pl	
Bulot			11,7 – 77,6 pl	
Crevette			51 – 59,8 pl	
Crevettes	Mer du Nord (Site sain)	Σ BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209	0,04 – 3,5 pf	Voorspoels <i>et al.</i> , 2003
Étoiles de mer			0,7 – 9 pf	
Crabes			0,9 – 15,6 pf	
Harengs	Mer du Nord	BDE-47+-99+-100	8,4-100	De Boer, 1990
Muscle de hareng	Baltique	BDE-47 BDE-99	59 – 450 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1993
			9,8 – 46 pl	
Harengs	Suède	BDE-47+-99+-100	17-62 pl	Sellström <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström, 1996
Harengs	Mer Baltique	BDE-47+-99+-100	3,2-32 pl	Haglund <i>et al.</i> , 1997
Muscles de saumons			223 pl	
Harengs	Mer du Nord	BDE-47+-99+-100	7,6 pl	Burreau <i>et al.</i> , 1999
Sprats			5,8 pl	
Saumons			60,4 pl	
Muscle de hareng	Mer Baltique	BDE-47	1,46 – 1,82 pf	Andersson <i>et al.</i> , 2003
Foie de hareng	Mer du Nord	BDE-47 BDE-99	9,6 pl	De Boer et Dao, 1993
			5,2 pl	
Sprats	Finlande	BDE-47	7,6-140 pl	Strandman <i>et al.</i> , 1999
Foie de morue	Mer du Nord	BDE-47+-99	1,9-360 pl	De Boer, 1989
Foie de morue	Mer du Nord	BDE-47 BDE-99	22 – 989 pl	De Boer et Dao, 1993
			2 – 32 pl	
Muscle de morues	Spitzberg	Σ BDE-47, 66, 85, 99, 100, 154	3,55 pl	Wolkers <i>et al.</i> , 2004

Tableau XII suite

Organisme	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Références
Foie de limande	Mer de Wadden	BDE-47 BDE-99	30 pl < 1 pl	De Boer et Dao, 1993
Muscle de hareng	Mer du Nord	BDE-28+47+99+100+153 +154	42,3 – 81,6 pl	Boon <i>et al.</i> , 2002
Foie de hareng			36,8 – 100,8 pl	
Muscle de morue			40,4 – 119,4 pl	
Foie de morue			89,2 – 478,3 pl	
Muscle de merlan			20,1 – 72,8 pl	
Foie de merlan			12,8 – 217,4 pl	
Gobies	Mer du Nord (Site sain)	Σ BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209	0,9 – 6,8 pf	Voorspoels <i>et al.</i> , 2003
Muscles de limandes			0,3 – 0,7 pf	
Foies de limandes			7 – 18,6 pf	
Muscles de plies			0,4 – 6,1 pf	
Foies de plies			12,5 – 158 pf	
Muscles de tacauds			0,4 – 2 pf	
Foies de tacauds			76 – 428 pf	
Muscles de soles			0,3 – 5 pf	
Foies de soles			3 – 55 pf	
Muscles de merlans			0,5 – 1,9 pf	
Foies de merlans			49 – 246 pf	
Muscle de gardon		Σ 12 PBDE BDE-209	4,3 – 82,6 pl 0,57 – 116 pl	
Muscle de perche	Mer Baltique	Σ 12 PBDE BDE-209	1,4 – 149,4 pl 0,3 – 31 pl	Burreau <i>et al.</i> , 2004
Muscle de brochet			Σ 12 PBDE BDE-209	

### Poissons et fruits de mer :

Dans des poissons de la mer du Nord et de la mer Baltique, les HexaBB étaient prédominants (WHO/ICPS, 1994a ; Pijnenburg *et al.*, 1995). Dans tous les échantillons de la mer Baltique, le BB-169 était le congénère majoritaire (jusqu'à 36 ng g<sup>-1</sup> de lipides) mais il n'a pas été détecté en mer du Nord (Jansson *et al.*, 1991). Les concentrations des autres HexaBB étaient plus importantes dans les poissons de la mer Baltique que dans ceux de la mer du Nord. Les concentrations de BB-153 dans les poissons marins allaient de 0,2 à 2,4 ng g<sup>-1</sup> de lipides (mer Baltique) (Jansson *et al.*, 1991, 1993). Les congénères découverts dans les poissons sont quelque peu différents de ceux des produits commerciaux. La plupart des pics majeurs pourraient être le résultat d'une débromation photolytique du DeBB mais cela n'a pas été confirmé (WHO/ICPS, 1994a).

Les moules marines ne sont pas non plus épargnées par la contamination par les PBDE, que ce soit en mer de Wadden, au Danemark, aux Pays-Bas ou au Groenland même si les concentrations varient en fonction des sites (De Boer et Dao, 1993 ; Christensen et Platz, 2001 ; De Boer *et al.*, 2003 ; Christensen *et al.*, 2002). En revanche, l'étude de De Boer *et al.* (2003) n'a montré aucune présence de PBB dans les moules.

Ikonomou *et al.* (1999), dans une étude sur l'hépatopancréas de crabes provenant de différents sites dans le détroit de Géorgie au Canada, ont montré de fortes concentrations de BDE-47 et de BDE-99 avec une prédominance du BDE-47. Ces valeurs étaient similaires à celles mesurées par Boon *et al.* (2002) dans les crabes entiers de la mer du Nord. Les concentrations de PBDE dans les invertébrés d'un site sain de la mer du Nord (Voorspoels *et al.*, 2003) étaient bien inférieures à celles mesurées dans les espèces similaires mais sur un site plus contaminé de la mer du Nord (Boon *et al.*, 2002).

Les analyses de muscles de harengs (*Clupea harengus*) ont montré la présence de PBDE à des concentrations variables selon les sites avec le BDE-47 comme congénère dominant (De Boer *et al.*, 1990 ; Jansson *et al.*, 1993 ; Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1996 ; Haglund *et al.*, 1997 ; Burreau *et al.*, 1999 ; Andersson *et al.*, 2003). Les plus faibles concentrations ont été trouvées chez les harengs âgés de 2 ans et les plus fortes concentrations ont été trouvées chez les harengs âgés de 5 ans (Haglund *et al.*, 1997). Les auteurs ont trouvé des niveaux similaires de methoxy-PBDE. Les niveaux de BDE-47 trouvés dans ces harengs étaient similaires aux concentrations trouvées par De Boer (1990) dans des harengs de trois régions différentes de la mer du Nord. Sellström (1996) a montré que les concentrations de PBDE dans les graisses de harengs était neuf fois supérieures dans les harengs capturés au printemps que dans ceux capturés en automne. Cette relation a déjà été observée pour les PCB, le DDT et les dioxines. En effet, au printemps, les harengs sont proches de la saison de frai et ceci affecte la disposition des lipides et leur métabolisme engendrant ainsi une modification des concentrations en organohalogénés. Les concentrations de BDE-47 et BDE-99 mesurées dans les harengs de la mer du Nord étaient similaires à celles mesurées dans les muscles (De Boer et Dao, 1993 ; Burreau *et al.*, 1999 ; Boon *et al.*, 2002).

Strandman *et al.* (1999), en Finlande, ont également trouvé des concentrations de BDE-47, -99 et -153 croissantes avec l'âge des sprats (3 à 13 ans) mais pas dans les harengs. Les concentrations en BDE-47 variaient selon les âges et les espèces : 7,6 à 24 ng g<sup>-1</sup> de lipides pour les sprats âgés de 1 à 3 ans, 17 à 140 ng g<sup>-1</sup> de lipides pour ceux âgés de 3 à 13 ans et 7,6 à 24 ng g<sup>-1</sup> de lipides pour les harengs. Dans les tissus totaux de hareng et de sprat, les concentrations de BDE-47, -99 et -100 étaient plutôt similaires (Burreau *et al.*, 1999).

Différentes études sur les saumons de la Baltique (*Salmo salar*) ont montré des concentrations de 167 ng g<sup>-1</sup> de lipides pour le BDE-47, 52 ng g<sup>-1</sup> de lipides pour le BDE-99 et 4,2 ng g<sup>-1</sup> de lipides pour le BDE-153 dans les muscles des individus (Haglund *et al.*, 1997). Dans les tissus totaux ces valeurs étaient de 47, 7,2 et 6,2 ng g<sup>-1</sup> de lipides (Burreau *et al.*, 1999). Une étude d'Asplund *et al.* (1999) a mis en évidence une répartition des BDE-47, -99 et -100 à

40% dans les muscles, à 40 % dans le sang et à 20% dans les œufs. Sur ces trois composés, le BDE-47 était majoritaire à environ 65 %.

Des foies de morues collectés dans diverses régions de la mer du Nord possédaient des niveaux importants de PBDE et en particulier de BDE-47 (De Boer, 1989 ; Boon *et al.*, 2002 ; Wolkers *et al.*, 2004). Ces concentrations étaient bien moins importantes dans les muscles (De Boer et Dao, 1993 ; Boon *et al.*, 2002). Toutes les autres études menées en parallèle sur les muscles et les foies de poissons ont mis en évidence de plus fortes concentrations dans les foies que dans les muscles (Boon *et al.*, 2002 ; Voorspoels *et al.*, 2003).

Burreau *et al.* (2004) ont pu mettre en évidence la présence de PBDE dans les gardons, les perches et les brochets de la mer Baltique. Les plus fortes concentrations ont été observées dans les brochets pour les congénères autres que le BDE-209. Le BDE-209 a lui aussi été détecté mais ses valeurs étaient les plus importantes dans les gardons.

Au Japon, Watanabe *et al.* (1987) ont découvert des PBDE dans différents poissons marins et fruits de mer. Les concentrations en TeBDE et PeBDE étaient comprises entre 0,1 et 17 ng g<sup>-1</sup>, pf avec le BDE-47 comme congénère majoritaire. Un échantillon de moules de la baie d'Osaka contenait aussi du DeBDE. Sept espèces de poissons marins (congre, flet, mullet, maquereau, brème de mer, bar et sériole) ont été prélevées dans la mer intérieure de Seto au Japon (Akutsu *et al.*, 2001). Sept PBDE ont été détectés dans tous les échantillons : les BDE-28, -47, -66, -99, -100, -153 et, -154 et le congénère le plus abondant était le BDE-47. Des niveaux relativement élevés de PBDE ont été trouvés dans les mullets et les sérioles.

#### ***Mammifères (Tableau XIII) :***

Les phoques gris femelles de la mer Baltique collectés entre 1979 et 1985 avaient des concentrations de PBDE supérieures à celles des mâles (Jansson *et al.*, 1993 ; Sellström *et al.*, 1993, Sellström, 1996). Les phoques annelés femelles étaient également contaminés mais à des niveaux moins importants. La graisse des phoques annelés et communs provenant de Suède contenait des niveaux similaires de BDE-47, -99 et -100 (Andersson et Wartanian, 1992) tout comme la graisse des phoques gris et annelés collectés entre 1981 et 1988 en mer Baltique (Haglund *et al.*, 1997). Les phoques annelés mâles du Canada possédaient des concentrations de PBDE plus importantes que les femelles (Alaee *et al.*, 1999). Les phoques communs de la mer Baltique possédaient des concentrations de PBDE supérieures à celles trouvées dans les phoques de la mer du Nord (Jansson *et al.*, 1987 ; Sellström, 1996). Jansson *et al.* (1991, 1993) ont également trouvé des concentrations en PBB dans les phoques de la mer du Nord et dans les phoques de la mer Baltique. Une étude réalisée sur les phoques communs (*Phoca vitulina*

Richardsi) de la baie de San Francisco a révélé qu'ils possédaient dans leurs muscles des concentrations de PBDE très importantes (She *et al.*, 2002). Le BDE-47 était le congénère majoritaire. Ces valeurs auraient augmenté de façon dramatique durant ces dix dernières années.

Kuehl *et al.* (1991) ont mené une étude sur la graisse de trois dauphins collectés au sud des USA sur la côte Atlantique durant une période de forte mortalité (1987/1988). Ces graisses contenaient des PBDE tout comme les dauphins du golfe du Mexique (Kuehl et Haebler, 1995).

De Boer *et al.* (1998a, 1998b) ont trouvé des PBDE dans les graisses de trois cachalots, d'un petit rorqual et d'un dauphin trouvés échoués sur la côte allemande au début de l'année 1998. De nombreux phoques communs ont également été échantillonnés. Les niveaux trouvés allaient de 24 (BDE-100 dans les cachalots) à 5500 (BDE-47 dans le dauphin) ng g<sup>-1</sup> de lipides. Les analyses incluaient le BDE-209 mais ce composé était toujours à des niveaux inférieurs à la limite de détection. Les concentrations de PBDE découvertes dans les dauphins de la mer du Nord ne sont pas si fortes que les concentrations en PCB trouvées dans ces mêmes organismes (> 128 mg kg<sup>-1</sup> de lipides) mais une augmentation de leur production pourrait engendrer une augmentation des niveaux de PBDE dans l'environnement (Boon *et al.*, 1997 ; De Boer *et al.*, 1998a).

Les globicéphales des îles Feroe en Islande ont également été étudiés (Lindström *et al.*, 1999). Les plus fortes concentrations ont été trouvées dans de jeunes individus mâles et femelles. Les femelles adultes avaient des concentrations légèrement inférieures à celles des mâles adultes. Une seconde étude sur les globicéphales a montré une tendance similaire (Van Bavel *et al.* 1999).

Les bélugas femelles du Canada avaient des concentrations moyennes inférieures à celles des bélugas mâles (Alaee *et al.*, 1999).

La somme des concentrations en BDE-47 et -99 chez les marsouins de Colombie Britannique était bien supérieure à celle obtenue chez les orques (Ikonomou *et al.*, 1999). Law *et al.* (2002) ont mené une étude sur des marsouins du nord-est de l'Angleterre se nourrissant de poissons contaminés par des PBDE. Les concentrations, mesurées dans leur graisse, allaient jusqu'à 6900 ng g<sup>-1</sup>, pf et les congénères dominants étaient les BDE-47, -99 et -100. Covaci *et al.* (2002b) ont étudié des foies de marsouins (*Phocoena phocoena*) provenant de la mer du Nord. La somme des concentrations de PBDE était importante et le BDE-47 était majoritaire. Les concentrations de PBDE étaient plus importantes chez les marsouins adultes que chez les jeunes et plus importantes chez les mâles que chez les femelles.

Les concentrations de PBDE mesurées dans les bélugas du Spitzberg étaient bien supérieures à celles mesurées dans les phoques de la même région (Wolkers *et al.*, 2004).

**Tableau XIII :** Tableau représentant quelques valeurs obtenues dans des mammifères marins. pl. : concentration exprimée en fonction du poids de lipides, pf : concentration exprimée en fonction du poids frais.

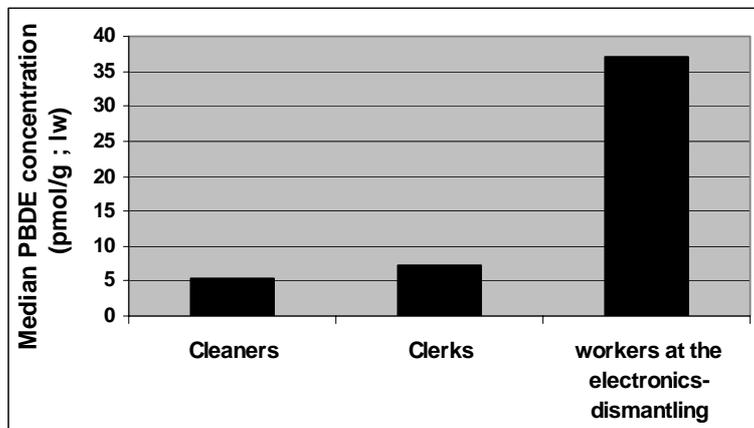
Organisme	Site	Congénère	Concentration (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Références
Phoques gris ♀ Phoques gris ♂ Phoques annelés ♀	Mer Baltique	BDE-47+-99+-100	730 pl 280 pl 40-51 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström <i>et al.</i> , 1993 ; Sellström, 1996
Phoques annelés Phoques communs	Suède	BDE-47+-99+-100	320 pl 230 pl	Andersson et Wartanian, 1992
Phoques gris Phoques annelés	Mer Baltique	BDE-47+-99+-100	419 pl 350 pl	Haglund <i>et al.</i> , 1997
Phoques annelés ♀ Phoques annelés ♂	Canada	Σdi- à hexaBDE	25,8 pl 50 pl	Alaee <i>et al.</i> , 1999
Phoques communs	Mer Baltique Mer du Nord	BDE-47+-99+-100	90 pl 10 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1987 ; Sellström, 1996
Phoques communs	Mer Baltique Mer du Nord	PBB	26 pl 0,4 pl	Jansson <i>et al.</i> , 1991, 1993
Phoques communs	États-Unis	PBDE	88-8325 pl	She <i>et al.</i> , 2002
Dauphins	États-Unis	PBDE	180-220 pl	Kuehl <i>et al.</i> , 1991
Dauphins	Golfé du Mexique	PBDE	>8000 pl	Kuehl et Haebler, 1995
Cachalots Rorqual Dauphin	Échoués en Allemagne	ΣBDE-47+-99+-100 BDE-209	24-5500 pl ND	De Boer <i>et al.</i> , 1998a, 1998b
Jeunes globicéphales Globicéphales ♀ Globicéphales ♂	Islande	PBDE	3000-3160 pl 840-1050 pl 1610 pl	Lindström <i>et al.</i> , 1999
Jeunes globicéphales Globicéphales ♀ Globicéphales ♂	Islande	PBDE	740 pl 230 pl 540 pl	Van Bavel <i>et al.</i> , 1999
Bélugas ♀ Bélugas ♂	Canada	Σdi- à hexaBDE	81,2 pl 160 pl	Alaee <i>et al.</i> , 1999
Orques Marsouins	Colombie Britannique	BDE-47+-99	100 pl 300-2000 pl	Ikonomou <i>et al.</i> , 1999
Marsouins	Angleterre	BDE-47+-99+-100	→ 6900 pf	Law <i>et al.</i> , 2002
Foies de marsouins	Mer du Nord	PBDE	2290 pl	Covaci <i>et al.</i> , 2002b
Graisse de phoques Graisse de bélugas	Spitzberg	Σ BDE-47, 66, 85, 99, 100, 154	18,3 pl 279 pl	Wolkers <i>et al.</i> , 2004
Foie de marsouin Graisse de marsouin Foie de phoque Graisse de phoque	Mer du Nord	BDE- 28+47+99+100+153 +154	7,3 – 11157 pl 360,2 – 4160 pl 146,9 – 7799 pl 81,1 – 13708 pl	Boon <i>et al.</i> , 2002

**Ainsi, le BDE-47 est le congénère le plus présent dans les différentes études menées à travers le monde. Le BDE-209, qui était très présent dans les sédiments, est très rarement détecté dans les organismes. Les concentrations mesurées dans le foie des organismes sont en général plus importantes que celles mesurées dans les muscles.**

### **Chez les hommes**

Les BFR sont également présents chez les hommes. Ils ont été découverts dans des cheveux (De Carlo, 1979), dans les tissus adipeux (Cramer *et al.*, 1990 ; Stanley *et al.*, 1991 ;

Haglund *et al.*, 1997 ; Lindström *et al.*, 1998, Meironyté-Guvenius & Norén, 1999 ; Strandman *et al.*, 1999 ; Covaci *et al.*, 2002a) et dans le sang (Klasson-Wehler *et al.*, 1997 ; Sjödin *et al.*, 1999b ; Schröter-Kermani *et al.*, 2000). Dans l'étude de Sjödin *et al.* (1999b), le sang de travailleurs suédois a été étudié selon leur lieu de travail (figure 13).



**Figure 13 :** Concentrations moyennes en PBDE dans le sang de travailleurs suédois selon leur lieu de travail (Sjödin *et al.*, 1999b). **Cleaners** : techniciens de surface dans un hôpital ; **Clerks** : employés de bureau ; **Workers at electronics dismantling** : employés d'une usine de démantèlement de matériel informatique.

Les techniciens de surface, les moins exposés aux BFR, sont ceux qui possèdent le plus faible taux de PBDE dans leur sang. Les quantités trouvées chez les employés de bureau sont légèrement plus importantes. Ceci est dû au fait qu'ils côtoient chaque jour des ordinateurs. Cependant ce sont les employés de l'usine de retraitement de matériel électronique qui possèdent les taux les plus importants ; preuve de leur importante exposition à ces produits durant le démantèlement des appareils.

De nombreuses études ont également montré que les PBDE étaient présents dans le lait maternel (Darnerud *et al.*, 1998 ; Lind *et al.*, 2001 ; Meironyté *et al.*, 1998 ; 1999 ; Meironyté Guvenius & Norén, 2000 ; 2001 ; Nören & Meironyté, 1998 ; 2000 ; Ohta *et al.*, 2000 ; Ryan & Patry, 2000 ; Strandman *et al.*, 2000). D'ailleurs, cette situation est extrêmement préoccupante puisque leur concentration double tous les cinq ans (Norén et Meironyté, 1998, 2000 ; cf. I.2.1.3.i. *Accumulation et transfert des BFR - Tendances spatiales et temporelles*). Le BDE-47 était le congénère prédominant de toutes les études. Quant au BB-153, ce serait le PBB le plus abondant dans le lait humain avec 1,03 ng g<sup>-1</sup> de lipides (Krüger, 1988).

Une étude réalisée sur les tissus mammaires de 23 femmes américaines a révélé des concentrations de PBDE de 86,6 ng g<sup>-1</sup> de lipides (She *et al.*, 2002). Le congénère majoritaire était le BDE-47 suivi du -153, du -154, du -99 et du -100. L'étude a pu mettre en évidence le fait que les concentrations en PBDE diminuent avec l'âge de la personne. Ces niveaux sont cependant très supérieurs aux valeurs trouvées dans des échantillons de tissus mammaires de

femmes suédoises (x 3) (Lindström *et al.*, 1998) ou de tissus mammaires de femmes espagnoles (x 25) (Meneses *et al.*, 1999). De plus, les niveaux d'hexa-BDE sont supérieurs aux prévisions effectuées aux USA à la fin des années 80 (Stanley *et al.*, 1991).

### I.2.1.3.iii. Accumulation et transfert des BFR

#### **Bioconcentration / Biomagnification**

Les PBB et les PBDE sont persistants et hautement hydrophobes ( $\log K_{ow} = 4-10$ ) ce qui leur confère une forte capacité de liaison avec les particules et une forte tendance à s'accumuler dans les sédiments ou les tissus.

Quelques études ont été menées sur les facteurs de bioconcentration et de biomagnification sans toutefois s'étendre à beaucoup d'organismes.

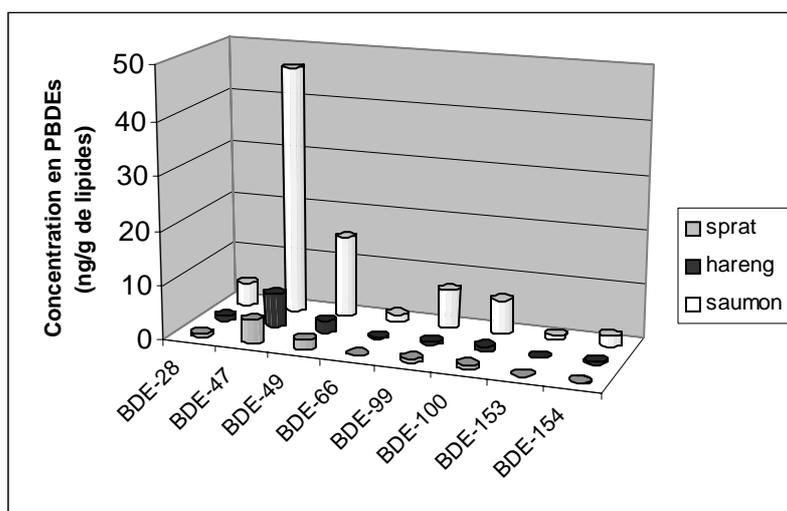
Gustafsson *et al.* (1999) ont étudié les facteurs de bioconcentration de différents congénères de PBDE de l'eau aux moules (*Mytilus edulis*) de la Baltique. Ce facteur était de 1 300 000 pour le BDE-47, de 1 400 000 pour le BDE-99 et de 220 000 pour le BDE-153. Ces valeurs étaient plus fortes que pour les PCB étudiés conjointement. Quand les concentrations de PBDE dans les sédiments ont été comparées à celles contenues dans les brochets collectés le long de la rivière Viskan, les ratios poissons/sédiments étaient élevés pour les BDE-47, -99 et -100 indiquant une forte biodisponibilité de ces produits (Sellström *et al.*, 1998a).

La bioconcentration a également été étudiée par Andersson *et al.* (1999) chez le danio (*Danio rerio*). Des chironomidés contaminées avec des PBDE (10  $\mu\text{g}$  de PBDE par gramme) ont servi à nourrir des danios à raison de 2% de leur poids chaque jour ( $\approx 3-4$  grammes). Les individus étaient sacrifiés régulièrement durant 35 jours. Les niveaux de PBDE dans les poissons augmentaient à chaque prélèvement et les composés ayant le plus fort facteur de bioconcentration étaient les BDE-47 et -28. Au bout de cinq semaines, la concentration en BDE-47 était de 4570  $\text{ng g}^{-1}$  de lipides. Une étude de 14 jours a également été menée pour étudier l'élimination de ces produits mais rien de significatif n'a été observé. Les résultats ont montré que les PBDE possédant plus de cinq bromes se bioconcentraient moins. Les BDE-28 et -47 ont un facteur de bioconcentration deux à trois fois supérieur à celui des autres congénères. Les BDE-85 et -138, qui sont substitués sur trois positions adjacentes, semblent avoir une structure défavorable à la bioconcentration voire favorable à une débromation. Le fait que le BDE-99 ne se bioconcentre pas ne semble pas en accord avec les résultats de Gustafsson *et al.* (1999) sur la moule, ni avec ceux de Bureau *et al.* (1997) sur le brochet.

En ce qui concerne la biomagnification, qui nous intéresse plus particulièrement, les études menées sur le PCB153 attestait de son potentiel de biomagnification (Abarnou *et al.*, 2000). Etant donné la forte similarité structurale des PBB et des PBDE avec les PCB, cette étude permettait de penser qu'ils pouvaient également se biomagnifier. En effet, les différentes études menées ont permis de le confirmer.

Les concentrations de PBDE dans le hareng et dans ses prédateurs : le phoque gris et le guillemot, tous collectés dans le même site de la mer Baltique, ont été comparées pour estimer leur potentiel de biomagnification (Sellström, 1996). Les harengs ont été capturés en automne de la même année que les œufs de guillemots. L'échantillon de phoque gris était un mélange de huit femelles trouvées mortes dans une zone de 1979 à 1985. Les facteurs de biomagnification entre les oeufs de guillemots et les harengs étaient de 19 pour le BDE-47, 17 pour le BDE-99 et 7,1 pour le BDE-100. Entre les phoques gris et les harengs, les valeurs étaient de 19 pour le BDE-47, 4,3 pour le BDE-99 et 6,8 pour le BDE-100. Jansson *et al.* (1993) avaient déjà étudié la biomagnification des PBB et des PBDE entre les harengs et les phoques et ils avaient montré que pour une concentration de 0,01 µg de PBB/g de lipides dans le hareng, une concentration de 0,02 µg de PBB/g se retrouvait dans le phoque et pour les PBDE les concentrations passaient de 0,25 µg g<sup>-1</sup> de lipides dans le hareng à 0,9 µg g<sup>-1</sup> de lipides dans le phoque. Ces observations attestait donc bien du potentiel de biomagnification de ces produits.

Des harengs, des sprats et des saumons ont été collectés en mer Baltique (Burreau *et al.*, 1999). Les BDE-17, -25, -28, -35, -47, -49, -66, -99, -100 et -154 ont été analysés pour étudier leur biomagnification (figure 14).

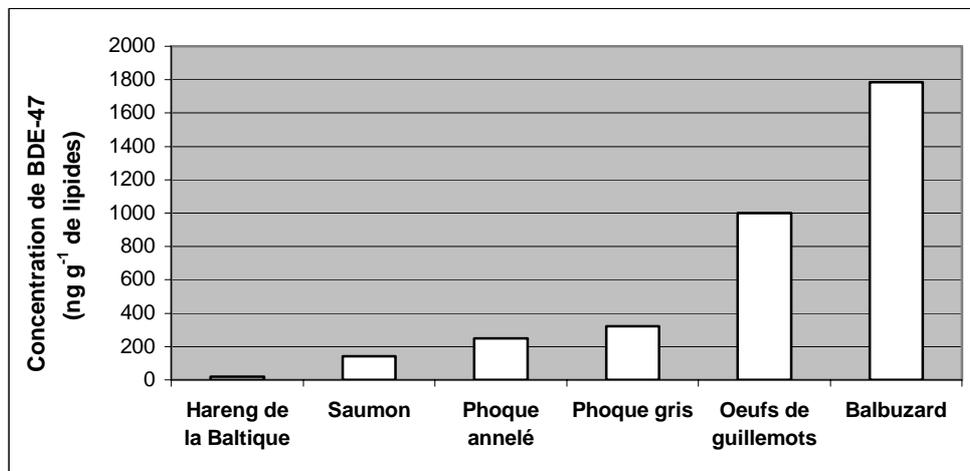


**Figure 14 :** Moyennes des concentrations de différents congénères de PBDE chez trois espèces de poissons (Burreau *et al.*, 1999).

**Le BDE-47 semble se biomagnifier plus largement** ce qui est en accord avec les études d'assimilation chez le brochet montrant un fort pourcentage d'assimilation du BDE-47 depuis l'intestin par rapport aux autres congénères (99 et 153) (Burreau *et al.*, 1997). Les auteurs ont également calculé le potentiel de biomagnification de tous les congénères de PBDE et ils ont trouvé qu'ils étaient tous positifs. Ceci indique que tous les congénères étudiés se biomagnifient. Cependant, il existe des différences puisque les tetra et penta-BDE se biomagnifient à des niveaux similaires, les tri-BDE se biomagnifient un peu moins et les hexa-BDE beaucoup moins. Pour exemple, entre le saumon et le sprat, les facteurs de biomagnification sont de 11 pour le BDE-47, 10 pour le BDE-99 et 8 pour le BDE-100.

Les balbuzards, qui ont des concentrations en PBDE supérieures aux poissons d'eau douce, ont été analysés mais aucune conclusion n'a pu être tirée sur leur potentiel de biomagnification étant donné leurs habitudes migratoires (De Wit, 2000).

En rassemblant les données de deux études, Darnerud *et al.* (2001) ont également pu montrer le potentiel de biomagnification des PBDE à différents niveaux trophiques (figure 15) :



**Figure 15 :** Concentrations du BDE-47 à différents niveaux trophiques de la chaîne alimentaire de la mer Baltique (Darnerud *et al.*, 2001 ; d'après les données de Haglund *et al.*, 1997 & Sellström *et al.*, 1993).

## Tendances spatiales et temporelles

### Variations spatiales :

Les différentes études menées ont permis de dresser un tableau des zones plus ou moins contaminées par les PBDE (tableau XIV) :

**Tableau XIV :** Tableau récapitulatif des gradients de concentrations de PBDE observés dans différentes zones d'Europe.

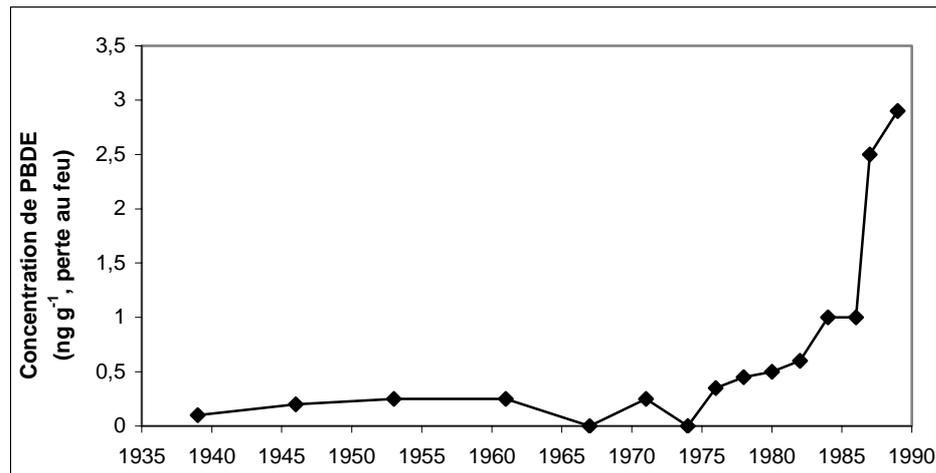
Substrat	Zone de plus forte concentration	Zone de moins forte concentration	Référence
Sédiment	Rivières du sud de l'Europe	Scandinavie / mer Baltique	Kierkegaard <i>et al.</i> , 1996 ; Sellström <i>et al.</i> , 1999.
Poissons d'eau douce	Sud de la Suède	Nord de la Suède	Sellström <i>et al.</i> , 1993 Sellström, 1996.
Harengs des côtes suédoises	Sud de la mer Baltique	Côtes ouest et nord	Sellström <i>et al.</i> , 1993 Sellström, 1996.
Morue	Sud de la mer du Nord	Nord de la mer du Nord	De Boer, 1989
Guillemots	Mer Baltique	Arctique	Jansson <i>et al.</i> , 1987.
Phoques communs	Côte des Pays-Bas	Nord de la mer du Nord	De Boer <i>et al.</i> , 1998b.
Phoques annelés	Mer Baltique	Arctique	Haglund <i>et al.</i> , 1997 ; Andersson et Wartanian, 1992.

La tendance spatiale observée chez les poissons d'eau douce et les harengs des côtes suédoises est identique à celle trouvée pour les PCB et le DDT (NV, 1988). Les côtes de l'Europe du sud sont plus contaminées en PBDE suivies par la mer Baltique. Il existe également un gradient dans le nord de l'Europe avec des niveaux déclinants du sud vers le nord. Les plus faibles niveaux de PBDE découverts se trouvent en Arctique. Ces tendances sont tout à fait similaires à celles trouvées en général pour les contaminants organochlorés.

#### **Variations temporelles :**

- Les sédiments de la mer Baltique (Nylund *et al.*, 1992) :

Les résultats obtenus par Nylund *et al.* (1992) sur des sédiments de la mer Baltique sont représentés sur la figure 16.



**Figure 16 :** Evolution des concentrations de PBDE dans les sédiments de la mer Baltique de 1939 à 1989 (Nylund *et al.*, 1992).

Ce graphique permet de remarquer que les concentrations ont particulièrement augmenté à partir des années 80, soit dix ans après la date de première utilisation de ces produits.

- Les brochets du lac Bolmen (Kierkegaard *et al.*, 1993 ; 1999) :

L'analyse des BDE-47, -99 et -100 dans des échantillons de brochets de 1967 à 1996 a permis de mettre en évidence une augmentation significative de ces congénères de 1967 à 1982. Puis de 1982 à 1996, de fortes variations sont apparues entre les années mais la tendance semblait tout de même indiquer un équilibre sans signe de diminution.

- Les truites du lac Ontario (Luross *et al.*, 2000) :

Les concentrations de PBDE dans les truites du lac Ontario sont passées de 3 ng g<sup>-1</sup> de lipides en 1978 à 945 ng g<sup>-1</sup> de lipides en 1998, signe également d'une contamination extrêmement importante des écosystèmes en 20 ans.

- Les œufs de guillemots de la Mer Baltique (Sellström *et al.*, 1993 ; Sellström, 1999) :

L'analyse des BDE-47, -99 et -100 de 1969 à 1997 a permis d'observer une tendance à l'augmentation de ces trois congénères dans les œufs de guillemots notamment de 1969 à 1990. Après 1990, de larges variations ont été observées suivant les années puis à partir de 1992, les concentrations ont commencé à baisser.

- Les phoques annelés (Ikonou *et al.*, 2000) :

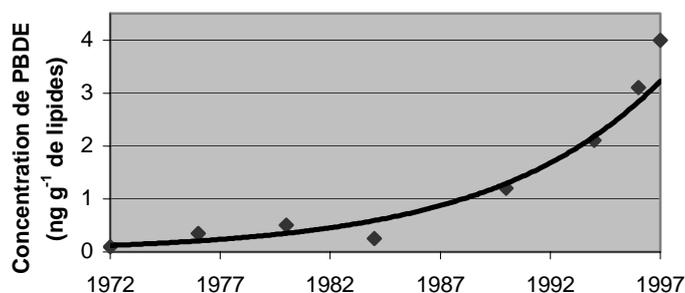
L'étude des PBDE dans les phoques des îles Holman au Canada a montré une augmentation significative des concentrations de 1981 à 1996.

- Les bélugas (Stern et Ikonou, 2000) :

L'augmentation des concentrations en BDE-47 dans les bélugas a été observée depuis 1982. Ces concentrations augmentent de façon inquiétante puisqu'elles ont été multipliées par 6,5 pendant les quinze dernières années.

- Les hommes

Chez les êtres humains, la tendance la plus inquiétante a été observée dans le lait maternel dans lequel la concentration de PBDE doublait tous les cinq ans (figure 17).



**Figure 17 :** Concentration en PBDE (total de 8 congénères) dans des échantillons de lait maternel prélevés à différentes périodes en Suède (Norén & Meironyté, 1998, 2000).

Cependant, depuis 1997, il semblerait que la tendance soit à une décroissance des concentrations en PBDE dans le lait maternel (Meironyté-Guvenius et Norén, 2001).

### Contamination via la nourriture

L'étude de la contamination des réseaux alimentaires permet également d'évaluer la capacité de transmission des polluants aux consommateurs finaux. Des études sur leurs régimes alimentaires sont donc importantes.

Une étude d'Ohta *et al.* (2002) a été menée sur différents produits alimentaires achetés en grande surface au Japon. Ces produits (poissons et fruits de mer : sérioles sauvages et d'élevage jeunes et matures, saumons sauvages et d'élevage, maquereaux sauvages, thon jaune et myes ; légumes : pommes de terre, carottes et épinards ; viandes de bœuf, de porc et poulet) ont été choisis afin d'étudier l'exposition humaine aux PBDE via la nourriture.

Les concentrations cumulées des différents congénères de PBDE dans les poissons et les fruits de mer variaient de 17,7 à 1720 pg g<sup>-1</sup>, pf. Les concentrations les plus faibles se trouvaient dans les thons puis augmentaient dans les myes puis dans les saumons, les sérioles matures, les maquereaux et étaient les plus fortes chez les jeunes sérioles. Le BDE-47 était le congénère dominant.

Dans les végétaux, les concentrations de PBDE étaient les plus importantes dans les épinards (134 pg g<sup>-1</sup>, pf) puis dans les pommes de terre (47,6 pg g<sup>-1</sup>, pf) et enfin dans les carottes (38,4 pg g<sup>-1</sup>, pf). Les épinards sont les seules plantes à feuilles de l'expérience et sont donc

fortement influencées par les teneurs en PBDE dans l'air. Les concentrations de PBDE étaient de 63,6 pg g<sup>-1</sup>, pf dans le porc, de 16,2 pg g<sup>-1</sup>, pf dans le bœuf et de 6,25 pg g<sup>-1</sup>, pf dans le poulet.

Chez les Japonais, la consommation de poissons et de fruits de mer représentent 11% de l'alimentation journalière, la viande représente 9% et les légumes 17,5% (Itoh, 1999). La consommation journalière de poissons, dont les concentrations en PBDE sont très variables, pourrait être à l'origine d'un apport important de ces produits. Afin d'étudier l'impact de la consommation de poissons sur la contamination humaine, les auteurs ont mené une étude sur le lait maternel de japonaises plus ou moins grandes consommatrices de poissons. Il existe bien une relation entre les concentrations de PBDE trouvées dans le lait maternel et les habitudes alimentaires des sujets puisque les concentrations allaient de 668 pg g<sup>-1</sup> de lipides pour les consommatrices mangeant peu de poissons à 2840 pg g<sup>-1</sup> pour celles en mangeant beaucoup.

En Suède, les données sur les habitudes de consommation des habitants étaient peu nombreuses mais Darnerud *et al.* (2000) ont estimé que la prise journalière de PBDE était de 51 ng dont à peu près la moitié proviendrait de la consommation de poissons. Les graisses et les huiles engendreraient un apport de 15%. Une étude de Sjödin (2000) a montré que des hommes ayant un régime alimentaire riche en poissons (> 12 repas/mois) avaient des concentrations de BDE-47 élevées dans leur sang.

#### *1.2.1.3.iv. Etudes toxicologiques*

### **Génotoxicité**

Les PBB ne sont pas considérés comme des composés mutagènes mais ils provoquent la carcinogénéité de composés mutagènes tels que la nitrosamine ou certains Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) (Safe, 1984 ; Pijnenburg *et al.*, 1995).

Une des seules études réalisées sur le mélange Nonabromobiphenyl, autrefois utilisé dans l'industrie, a été menée sur des rongeurs. La plus faible dose orale provoquant un effet carcinogène sur les souris était de 0,5 µg kg<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> et la dose maximale sans effet (NOEL : No Observable Effect Level) chez le rat était inférieure à 0,15 µg kg<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> (Momma, 1986).

Une étude de carcinogénéité a été menée sur des souris et des rats auxquels du DeBDE était administré oralement. Une augmentation des adénomes a été remarquée dans les foies des rats mâles ayant reçu 25 g de DeBDE kg<sup>-1</sup> et chez les rats femelles ayant reçu 50g de DeBDE kg<sup>-1</sup>. Chez les souris mâles, le DeBDE augmente l'incidence d'adénomes hépatocellulaires et/ou de carcinomes à partir de 25 g kg<sup>-1</sup> et augmente l'incidence des adénomes et carcinomes des cellules

folliculaires de la thyroïde pour les deux doses. Les souris femelles ne montraient pas d'augmentation des tumeurs. Les résultats des tests de mutagenèse se sont révélés négatifs et il a été conclu que le BDE-209 n'était pas un carcinogène génotoxique (WHO/ICPS, 1994b). Les tests sur l'octaBDE se sont également révélés négatifs.

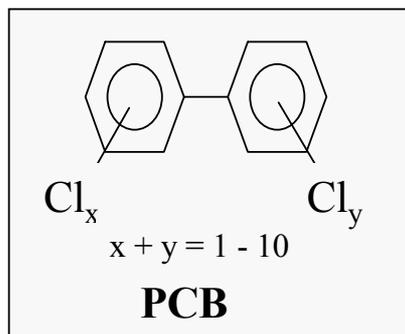
### **Toxicité sur la reproduction et le développement**

Les PBB et les PBDE sont présents dans la liste des composés « perturbateurs endocriniens » (Colborn *et al.*, 1993) et plusieurs études ont démontré leur action sur la reproduction et le développement :

- Les composés Fire Master FF-1 contenant des PBB engendrent un allongement du cycle sexuel des singes (Pijnenburg *et al.*, 1995).
- Les PBB sont à l'origine d'une diminution de la production d'œufs chez les cailles japonaises (Aust *et al.*, 1987).
- Chez les souris, le DiBB (DiBromoBiphenyl) et le TetraBB diminuent à haute dose le taux de fertilisation *in vitro*. De plus, pour des concentrations allant de 1 à 10 mg ml<sup>-1</sup> de PBB, une augmentation des embryons anormaux à deux cellules et des oocytes dégénératifs est observée (Kholkute *et al.*, 1994).
- Les PBB affectent la régulation des hormones stéroïdes (Kholkute *et al.*, 1994).
- Le DeBDE a des effets tératogènes chez les fœtus de rats intubés avec 10-1000 mg kg<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> pendant les jours de gestation 6 à 15. Une toxicité fœtale est observée à 1000 mg kg<sup>-1</sup> et se traduit par des œdèmes sous-cutanés et une moins bonne ossification du crâne du fœtus (Norris *et al.*, 1975b).
- A fortes doses, l'octaBDE (25-50 mg kg<sup>-1</sup>) engendre chez les rats une résorption des os, une diminution de l'ossification et des malformations fœtales (WHO/ICPS, 1994b).
- Chez les lapins, la fétotoxicité a été montrée pour des doses maternelles de 15 mg d'octaBDE kg<sup>-1</sup> (NOEL : 2,5 mg kg<sup>-1</sup>) (Breslin *et al.*, 1989). Les tests sont négatifs pour le PeBDE (WHO/ICPS, 1994b).
- Chez la femelle épinoche, une dose orale de 0,5 mg de Bromkal 70-5 DE pendant 3 mois ½ engendre une diminution des succès de gestation (Holm *et al.*, 1993).

## Neurotoxicité

Les PBB et les PBDE ont une structure similaire à celle des PolyChloroBiphényles (figure 18). Les PBDE sont généralement plus polaires que les PCB à cause de la présence d'un atome d'oxygène engendrant une asymétrie sur l'axe horizontal.



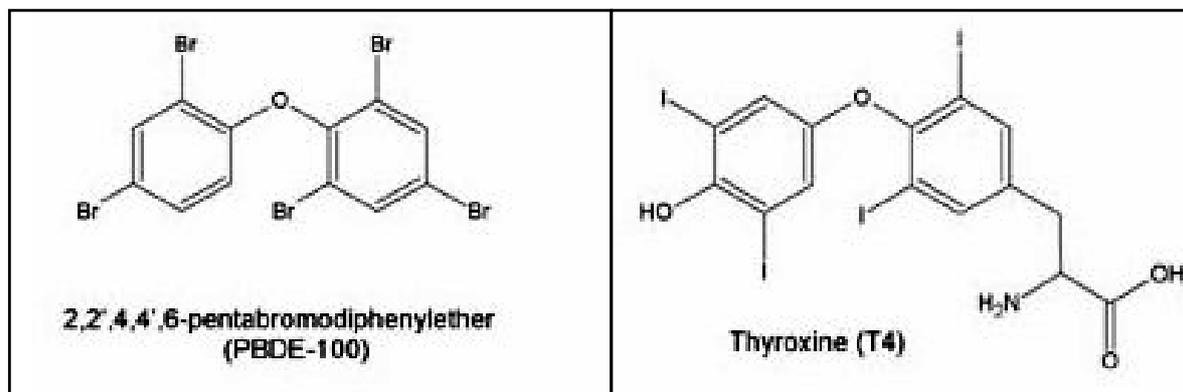
**Figure 18 :** Structure chimique des PCB.

De part cette ressemblance, la neurotoxicité des PBB et des PBDE est intéressante à étudier puisque les PCB sont connus pour induire, par exemple, des altérations comportementales chez la souris (Eriksson & Fredriksson, 1996). Lorsque les souris sont exposées à 4 congénères différents de PCB (IUPAC no. 28, 52, 118, 156) au 10<sup>ème</sup> jour postnatal il a été montré que les 2 congénères ortho-substitués (28 et 52) pouvaient induire des aberrations persistantes du comportement. Le PCB-52 altérerait aussi les capacités d'apprentissage de la souris adulte. Les mono-ortho PCB n'avaient pas d'effets sur les souris (Eriksson & Fredriksson, 1996). La raison de ces altérations du comportement est liée à une période critique de développement du cerveau, appelée « le sursaut de croissance du cerveau » (brain growth spurt : BGS) (Eriksson *et al.*, 1998), pendant laquelle le cerveau est particulièrement sensible aux influences externes. Cette période commence chez les rats et les souris au stade néonatal et continue pendant les 3-4 premières semaines de la vie. Chez les humains, cette période démarre durant le 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse et continue pendant les deux premières années (Eriksson & Fredriksson, 1996; Eriksson *et al.*, 1998). Quand les souris sont exposées au BDE-47 et au BDE-99 (1,4 et 21,1  $\mu\text{mol/kg}$ ) par Eriksson *et al.*, (1998), leur comportement moteur spontané, au 10<sup>ème</sup> jour néonatal, montre une perturbation de plus en plus importante des habitudes avec l'augmentation de la dose. Les résultats indiquaient aussi que le comportement semblait empirer avec l'âge. Dans une autre étude, où seul du BDE-99 était testé, il a été montré que l'exposition néonatale aux jours 3 et 10 mais pas au jour 19 augmentait les perturbations du comportement

(Eriksson *et al.*, 1999). Le BDE-153 déclenchait aussi les mêmes réponses que celles des autres congénères testés (Viberg *et al.*, 2001). Récemment, Viberg *et al.* (2001) ont montré que les souris exposées au BDE-209 par voie orale ( $21 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ) pouvaient retenir le composé dans le cerveau après une exposition orale, ce qui causait des perturbations du comportement spontané. Cependant, les souris répondaient uniquement ainsi lorsqu'elles étaient traitées au jour postnatal 3 et pas au jour 10 comme pour les autres congénères. Même les souris exposées au stade périnatal au BDE-99 (6<sup>ème</sup> jour de gestation) montraient des effets similaires quand elles subissaient des tests de comportement à l'âge adulte. La réponse empirait également avec l'âge et commençait à être évidente autour du premier mois (Branchi *et al.*, 2001).

### Effets thyroïdiens

La structure chimique des PBDE, et en particulier celle de ses métabolites, ressemble à celle de la thyroxine (figure 19). En effet, les PBDE possèdent deux cycles de carbones autour desquels des molécules de brome sont fixées, les hormones thyroïdiennes possèdent, elles, deux cycles carbonés autour desquels des molécules d'iode sont fixées.



**Figure 19 :** Structure chimique du BDE-100 et d'une hormone thyroïde : la thyroxine (T4).

Cette ressemblance contribuerait à altérer les niveaux de thyroxine (T4) dans le sang et engendrerait des hyperplasies de la thyroïde, observées chez des animaux de laboratoire (Fowles *et al.*, 1994 ; WHO/IPCS, 1994b).

Des études ont été réalisées pour tester l'inhibition des récepteurs T4 par les métabolites des PBDE. Trois PBDE-OH ont été mis en présence de T4 pour tester leur compétitivité sur les récepteurs des T4 (Brouwer *et al.*, 2001). La meilleure affinité de liaison a été observée chez les PBDE-OH. Meerts *et al.* (2000) ont étudié les interactions des produits de dégradation et des métabolites des PBDE avec une protéine du sang permettant le passage des T4 dans le corps. La protéine, appelée transthyretine, est une des principales escorte des T4 dans le sang. Des

composés tels que les PCB ou les PBDE, et principalement les PBDE hydroxylés, seraient susceptibles d'interagir avec cette protéine et d'empêcher la fixation des T4. Le tetra-BDE se lierait d'ailleurs plus fortement que le T4 lui-même. La liaison des PBDE-OH avec les récepteurs de T4 serait 1,42 fois plus forte que celle des T4 eux-mêmes.

Des tests *in vivo* ont été menés sur des rats afin de tester les effets du BDE-47 sur les hormones thyroïdiennes avec un apport de BDE-47 par la nourriture de 1, 6 et 18 mg kg<sup>-1</sup> pendant 14 jours (Hallgren et Darnerud, 1998). Des niveaux significatifs de T4 libres ont été observés dans le groupe le plus exposé. Les niveaux de T4 totaux montrent une tendance similaire qui est cependant moins nette. Chez des souris, des doses uniques aiguës de Bromkal 71-DE ont été administrées par voie orale pour observer son effet sur les hormones thyroïdiennes. Les doses données étaient de 0, 0,8, 4, 20, 100 et 500 mg kg<sup>-1</sup>. Les T4 totaux dans le sang diminuaient d'une façon non dose-dépendante, cependant, la plus faible dose administrée réduisait significativement la concentration des T4 totaux dans le sang. La présence de PBDE engendrerait donc une substitution des T4 sur les récepteurs de la thyroxine.

**Les retardateurs de flamme et notamment les PBDE sont donc très présents dans l'environnement. Ils sont absorbés par les organismes vivants et les PBDE les plus faiblement bromés semblent avoir tendance à se biomagnifier. De plus, leur augmentation dans tous les compartiments environnementaux se fait de façon rapide et pourrait mener à des niveaux assez élevés dans la faune, la flore et les êtres humains pour engendrer des effets indésirables. Cependant, les connaissances sur ces substances, sur leurs sources, leur toxicité et leur comportement dans l'environnement deviennent de plus en plus importantes et pourraient permettre de remédier plus ou moins rapidement à ce problème. C'est la raison pour laquelle l'étude de la présence de ces molécules dans l'environnement français et de leur capacité de biomagnification a été envisagée ici.**

D'autres contaminants ont attiré notre attention, il s'agit de pesticides : les triazines et en particulier l'atrazine et la simazine dont la capacité d'accumulation dans les divers compartiments aquatiques n'a pas été beaucoup étudiée.

## **I.2.2. Les pesticides**

### **I.2.2.1. Généralités**

Un pesticide est défini comme étant « toute substance, préparation ou organisme destinés à assurer la destruction ou à prévenir l'action des animaux, végétaux, micro-organismes et virus dits nuisibles » (Environment Agency, 1999). Les pesticides englobent les herbicides, les fongicides, les insecticides, les molluscicides, les rodenticides, les régulateurs de croissance et les préservateurs de charpentes ou de maçonnerie. Ils ne sont pas uniquement utilisés en agriculture, il existe aussi des pesticides à usage non agricole : ils sont utilisés pour prévenir la décomposition des aliments, combattre les animaux, végétaux ou microorganismes dans les habitations, bâtiments, piscines, égouts, combattre dans le sol et dans l'eau les organismes pouvant provoquer des maladies chez l'homme ou chez les animaux.

Les pesticides existent depuis très longtemps puisque les agriculteurs fabriquaient jadis des insecticides à base d'arsenic ou de bouillies à base de plantes tel que le pyrèthre. Les premiers pesticides de synthèse sont apparus dans les années 40 (où le nombre de produits avoisinait les 30) et ils ont tout de suite été à l'origine de très bons rendements engendrant ainsi une utilisation massive. Ce n'est que 20 ans après que Carson (1962) a montré que ces produits portaient atteinte à la santé des gens ainsi qu'à l'environnement.

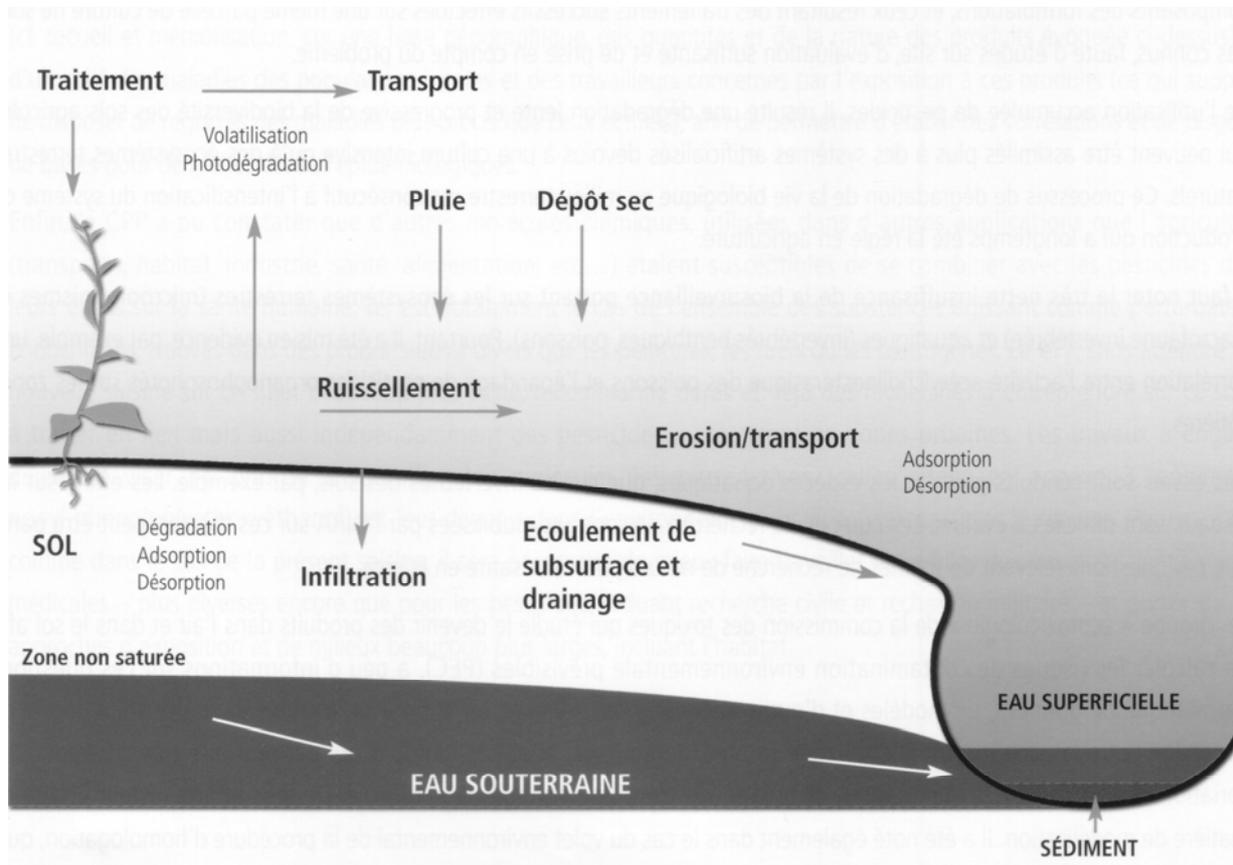
2,5 millions de tonnes de pesticides seraient appliqués chaque année sur les cultures planétaires. Or, seul 0,3% de cette quantité atteindrait réellement sa cible (Pimentel, 1995).

### **I.2.2.2. Dispersion dans l'environnement**

Les pertes de pesticides durant leur application sont assez variables. Lors d'un traitement par avion, environ 50% du produit est emporté par les vents et les rampes de pulvérisation engendrent une perte de 1 à 30% du produit (Pimentel et Levitan, 1986). De plus, la répartition des pesticides entre le sol, les feuilles, les résidus de cultures et les pertes varie en fonction du stade de la culture, de la formulation, de la cible, de la technique d'application et des conditions météorologiques.

Une fois le sol ou la plante atteints, les pesticides peuvent disparaître soit par volatilisation (pouvant aller jusqu'à 90% de pertes) (Glotfelty *et al.*, 1984, Taylor et Spencer, 1990), soit par ruissellement (pouvant aller jusqu'à 10% de pertes) (Leonard, 1990, Schiavon *et al.*, 1995) ou soit par lixiviation (pertes moins importantes) (Taylor et Spencer, 1990, Schiavon *et al.*, 1995) (figure 20). Le ruissellement contribue à la pollution des eaux de surface alors que la lixiviation contribue plutôt à la pollution des eaux souterraines. Les pesticides ont une

sélectivité médiocre vis-à-vis de leur cible ; voilà pourquoi ils provoquent tant d'effets nocifs sur l'environnement. De nombreux pesticides se dégradent rapidement dans le sol ou par action des rayons du soleil ; ils persisteront donc plus facilement s'ils atteignent rapidement le sous-sol ou les eaux souterraines où l'activité microbienne est réduite, où il n'y a pas de lumière et où les températures sont basses (Environment Agency, 1999).



**Figure 20 :** Mécanismes de transferts et de transformations des pesticides dans les milieux (CPP, 2002).

Leur absorption chez les organismes peut se faire de différentes façons : par la nourriture, par l'eau d'alimentation, par l'air respiré ou au travers de la peau ou de la cuticule.

### **I.2.2.3. Impacts des pesticides**

Du fait qu'ils n'atteignent pas facilement leur cible, les pesticides vont avoir un rayon de dispersion très important à l'origine d'effets sur de nombreux organismes allant des bactéries aux humains. Ils touchent notamment :

- La flore et la faune du sol constituées de bactéries, champignons, algues, vers de terre et insectes. L'ensemble représente un milieu très complexe et indispensable à la fertilité du sol. Les pesticides tendent à modifier cette population en sélectionnant les organismes les plus résistants. Les vers de terre sont très sensibles aux contaminants

avec lesquels ils entrent en contact notamment par l'eau imbibant le sol et sont aujourd'hui fréquemment utilisés comme modèles biologiques dans les études toxicologiques.

- La faune aquatique dont le plus grand nombre de victimes se trouve chez les poissons. Pimentel *et al.* (1993) estiment qu'entre 1977 et 1987, 6 à 14 millions de poissons sont morts chaque année à cause des pesticides aux Etats-Unis.
- Les oiseaux : leur empoisonnement peut se faire soit en ingérant des insectes handicapés à la suite d'un contact avec un pesticide, soit en ingérant des graines traitées. Même quand la dose est insuffisante pour causer leur mort, des effets néfastes peuvent apparaître. Tel est le cas du DichloroDiphenylTrichloroethane (DDT) responsable de la ponte d'œufs à coquille très fine engendrant ainsi une diminution des effectifs de populations (Hall, 1987).
- Les mammifères qui ingèrent de la nourriture contaminée. Une étude a montré que l'exposition péri- ou néonatale des mammifères à des pesticides comme l'aldrine, l'atrazine, le chlordane et la dieldrine pouvait perturber leur différenciation sexuelle (Leblanc, 1995).
- Les humains qui entrent en contact avec les pesticides en ingérant les résidus présents dans la nourriture, en buvant de l'eau de boisson, en respirant ou lorsque le produit entre en contact avec la peau. Environ 1 million d'empoisonnements accidentels sont constatés chaque année (dont environ 20 000 cas mortels ; *N.B.* : les empoisonnements intentionnels ne sont pas pris en compte mais ils représentent environ 2 millions de personnes). Les effets des pesticides sur l'espèce humaine sont très vastes : carcinogènes, immunodépresseurs, perturbateurs endocriniens, mutagènes, neurotoxiques et tératogènes (Hayes, 1991 ; Leblanc, 1995).

#### **I.2.2.4. Les triazines**

Les triazines ont été mises sur le marché en 1962. Elles sont essentiellement utilisées dans les cultures de maïs et de sorgho. Les matières actives de la famille des triazines sont : l'atrazine, la simazine, la terbuthylazine, la cyanazine, l'amétryne, la prométryne, la terbutryne, la trifluraline, le prométon, la propazine, le terbuméton, le sebuméton, la desmétryne et la métrybuzine. Elles sont utilisées sur de nombreuses cultures (vigne, arbres fruitiers, cultures légumières,...). Ces substances sont également employées avec d'autres substances actives notamment en viticulture et arboriculture.

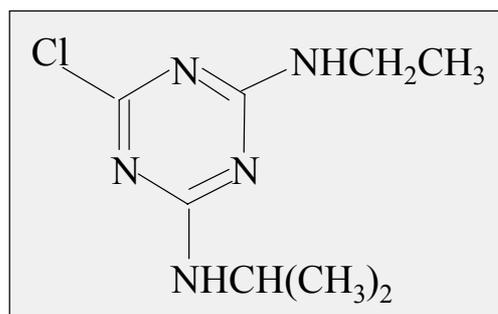
Le 28 septembre 2001, le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche a engagé le retrait de l'atrazine et de certains de ses dérivés. Le retrait de l'autorisation de mise sur le marché requise pour la commercialisation des produits a été appliqué le 30 septembre 2002 et l'usage des produits par les utilisateurs a été interdit le 30 juin 2003. La procédure de retrait s'appliquait aux préparations de base de simazine (pour tous les usages dont arboriculture et vigne), d'atrazine (pour tous les usages dont maïs, sorgho, igname, traitements généraux), de cyanazine (pour tous les usages), de terbuthylazine (pour tous les usages sur les arbres d'ornements, les pommiers, les poiriers, le maïs, le sorgho, les parcs et les jardins ; usage maintenu sur la vigne), de terbutryne et d'amétryne pour le maïs. En ce qui concerne les usages non-agricoles, l'atrazine et la simazine sont interdites depuis 1997.

Pourtant, malgré cette interdiction, ces produits vont incontestablement demeurer encore de nombreuses années dans le milieu aquatique. En effet, leur mobilité et leur persistance en milieu aquatique ont été démontrées et les études menées dans le cadre du programme Seine Aval ont révélé une diminution des concentrations en contaminants en parallèle à l'augmentation de la salinité indiquant un comportement conservatif des herbicides au cours de leur transport estuarien (Tronczynski *et al.*, 1999). Ces caractéristiques pourraient donc être à l'origine d'une accumulation de ces contaminants dans différents compartiments environnementaux.

L'atrazine et la simazine étaient les composés de la famille des triazines les plus utilisés, représentant respectivement 70% et 15% des traitements. Elles sont encore régulièrement retrouvées dans les eaux souterraines et superficielles, privant chaque année des villages d'eau potable. L'Institut Français de l'Environnement (IFEN) a montré la présence d'atrazine dans 58% des prélèvements effectués dans les eaux de surface et dans 52% des eaux souterraines en 2001. La région des Pays de la Loire est particulièrement touchée par ces pollutions car de nombreuses cultures sont réalisées sur ce territoire. Il était donc nécessaire de les détailler.

#### *1.2.2.4.i. L'atrazine*

L'atrazine, dont la formule est représentée sur la figure 21, est un herbicide systémique sélectif absorbé principalement à travers les racines mais aussi à travers les feuilles et s'accumulant dans les méristèmes apicaux et dans les feuilles. Il inhibe la photosynthèse et interfère avec des processus enzymatiques.



**Figure 21 :** Structure chimique de l'atrazine

L'atrazine est utilisée pour contrôler la pré- et la post-émergence des herbes et pour limiter la prolifération des mauvaises herbes dans les cultures de maïs, de sorgho, d'asperges, de canne à sucre, de bananes, d'ananas, de goyaves, de café, de palme, de roses, sur les gazons, dans les vignes, dans les vergers et dans les forêts (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000). Elle s'utilise également en combinaison avec d'autres herbicides. L'atrazine est phytotoxique pour de nombreux végétaux, pour les pommes de terre, les haricots de soja et les cacahuètes.

### **Propriétés physico-chimiques :**

Formule moléculaire :  $C_8H_{14}ClN_5$

Poids moléculaire :  $215,7 \text{ g mol}^{-1}$ .

Point de fusion :  $175,8^\circ\text{C}$

Pression de vapeur :  $0,039 \text{ mPa (}25^\circ\text{C)}$

Kow :  $\log P = 2,5 (25^\circ\text{C})$

Solubilité :  $33 \text{ mg l}^{-1}$  dans l'eau ( $20^\circ\text{C}$ )

pKa :  $1,7$

L'atrazine est relativement stable dans les milieux neutres, faiblement acides et faiblement alcalins. Elle est rapidement hydrolysée en dérivés hydroxy dans des milieux fortement acides et alcalins.

### **Toxicité (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000) :**

- Toxicité orale aiguë :  $DL_{50} = 1869\text{-}3080 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le rat  
 $DL_{50} = 1750\text{-}3992 \text{ mg kg}^{-1}$  chez la souris  
 $DL_{50} = 750 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le lapin
- Toxicité au niveau de la peau et des yeux (toxicité percutanée aiguë) :  
 $DL_{50} = 7500 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le lapin

$DL_{50} > 3100 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le rat

Légèrement irritant pour la peau, non irritant pour les yeux chez le lapin.

- Toxicité par inhalation :  $CL_{50}$  (4h)  $> 5,8 \text{ mg l}^{-1}$  d'air chez le rat
- NOEL :
  - 0,7  $\text{mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  chez le rat pendant 2 ans
  - 3,75  $\text{mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  chez le chien pendant 2 ans
  - 1,2  $\text{mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  chez la souris pendant 2 ans

### **Ecotoxicité (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000):**

- Chez les oiseaux : Toxicité orale aiguë : la  $DL_{50}$  varie de  $940 \text{ mg kg}^{-1}$  pour la caille à  $> 10\,000 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le canard Pékin.  
Toxicité par ingestion :  $CL_{50}$  (8 jours) =  $5760 \text{ mg kg}^{-1}$  de nourriture chez la caille ;  $19620 \text{ mg kg}^{-1}$  de nourriture chez le canard.
- Chez les poissons :  $CL_{50}$  (96h) =  $4,5\text{-}11 \text{ mg l}^{-1}$  chez la truite arc-en-ciel ;  $16 \text{ mg l}^{-1}$  chez la perche soleil ;  $76 \text{ mg l}^{-1}$  chez la carpe ;  $7,6 \text{ mg l}^{-1}$  chez le poisson chat ;  $16 \text{ mg l}^{-1}$  chez la perche et  $4,3 \text{ mg l}^{-1}$  chez les guppies.
- Chez les abeilles :  $DL_{50}$  (orale)  $> 97 \text{ } \mu\text{g/abeille}$  ;  $DL_{50}$  (par contact)  $> 100 \mu\text{g/abeille}$ .
- Chez les Daphnies :  $CE_{50}$  (48h) =  $6,9 \text{ mg l}^{-1}$  ;  $CE_{50}$  (21 jours)  $> 0,12 \text{ mg l}^{-1}$ .

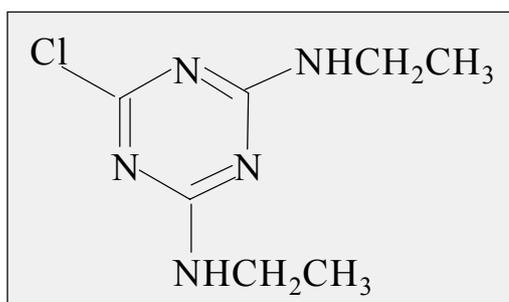
### **Comportement dans l'environnement :**

- Sol et eau : Dans le sol, la dissipation de l'atrazine est due à des processus biochimiques et chimiques et sa demi-vie est comprise entre 15 et 100 jours (Komang Ralebitso *et al.*, 2002). Les métabolites les plus souvent retrouvés sont la déséthylatrazine et l'hydroxyatrazine. Le temps de dissipation de 50% ( $DT_{50}$ ) de la substance en plein champ est généralement de 30-50 jours mais il peut être plus long dans des conditions froides ou sèches. Le  $DT_{50}$  dans les eaux souterraines varie de 105 à un peu plus de 200 jours (Wood *et al.*, 1991). L'atrazine peut également être biodégradée par différents microorganismes comme *Pseudomonas sp.* capables de transformer l'atrazine en atrazine déséthyle et en déisopropylatrazine (Komang Ralebitso *et al.*, 2002). Cependant, toutes les bactéries ne transforment pas l'atrazine en produits de dégradation, certaines ne font que libérer du  $\text{CO}_2$  ou du  $\text{NH}_4^+$ .

- Plantes : Chez les plantes tolérantes, l'atrazine est facilement métabolisée en hydroxyatrazine et en acides aminés. L'hydroxyatrazine est ensuite décomposée par dégradation des chaînes latérales et hydrolyse des acides aminés restant sur le cycle. Chez les plantes terrestres sensibles, l'atrazine non altérée s'accumule, engendrant des chloroses et la mort (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000).
- Animaux : Chez les Mammifères, après une administration orale, l'atrazine est rapidement et complètement métabolisée, dans un premier temps par dealkylation oxydative des groupements aminés (Ikonen *et al.*, 1988 ; Adams *et al.*, 1990) puis par réaction des atomes de chlore avec les groupements thiols endogènes. La diaminochlorotriazine est le principal métabolite, il se conjugue avec le glutathion. Plus de 50% de la dose administrée est éliminée dans les urines et environ 33% est éliminée par les fèces en 24 heures.

#### 1.2.2.4.ii. La simazine

La simazine, dont la formule est représentée sur la figure 22, est également un herbicide systémique sélectif absorbé principalement à travers les racines mais aussi à travers les feuilles et s'accumulant dans les méristèmes apicaux et dans les feuilles. Il inhibe le transport des électrons (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000).



**Figure 22 :** Structure chimique de la simazine

La simazine est utilisée pour contrôler la germination annuelle des herbes et pour limiter la prolifération des mauvaises herbes dans les cultures de fruits à pépins, fruits à noyau, dans les buissons, dans les cultures de canne, d'agrumes, dans les vignes, dans les cultures de fraises, de noix, d'olives, d'ananas, de haricots blancs, de haricots verts, de pois, de maïs, de maïs sucré, d'asperges, de luzerne, de lupin, d'huile de palme, d'artichauts, de canne à sucre, de cacao, de café, de caoutchouc, d'huile de colza, de thé, de gazon, de plantes ornementales et dans la sylviculture (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000).

Elle s'utilise également pour contrôler les mauvaises herbes sur des terres non cultivables et comme herbicide aquatique et algicide pour contrôler les proliférations dans les étangs. La simazine est phytotoxique pour de nombreuses cultures comme la betterave à sucre, le tabac, les tomates, les cucurbitacées, le trèfle, le riz, les haricots de soja, la laitue, l'avoine et de nombreux végétaux comme les épinards, les oignons, les carottes ou les crucifères (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000). Elle est également très toxique pour les algues (Monod, 1998).

### **Propriétés physico-chimiques :**

Formule moléculaire :  $C_7H_{12}ClN_5$

Poids moléculaire :  $201,7 \text{ g mol}^{-1}$ .

Point de fusion :  $225-227^\circ\text{C}$

Pression de vapeur :  $2,94 \mu\text{Pa}$  ( $25^\circ\text{C}$ )

Kow :  $\log P = 2,1$  ( $25^\circ\text{C}$ )

Solubilité :  $6,2 \text{ mg l}^{-1}$  dans l'eau ( $20^\circ\text{C}$ )

pKb : 12,3

La simazine est stable dans les milieux neutres, faiblement acides et faiblement alcalins. Elle est hydrolysée par des acides forts et des bases. Elle est décomposée par les radiations UV (90% en 96 heures).

### **Toxicité (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000) :**

- Toxicité orale aiguë :  $DL_{50} > 5000 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le rat, chez la souris et chez le lapin.
- Toxicité au niveau de la peau et des yeux (toxicité percutanée aiguë) :  
 $DL_{50} > 10200 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le lapin  
 $DL_{50} > 3100 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le rat

Non irritant pour la peau et les yeux chez le lapin.

- Toxicité par inhalation :  $CL_{50}$  (4h)  $> 2 \text{ mg l}^{-1}$  d'air chez le rat
- NOEL :  
 $0,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  chez le rat pendant 2 ans  
 $0,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$  chez le chien pendant 2 ans
- Dose Admissible Journalière :  $0,005 \text{ mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$

**Ecotoxicité (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000) :**

- Chez les oiseaux : Toxicité orale aiguë :  $DL_{50} > 5000 \text{ mg kg}^{-1}$  chez la poule et le pigeon.  $CL_{50}$  (8 jours) =  $8800 \text{ mg kg}^{-1}$  chez la caille et  $CL_{50}$  (8 jours) =  $51200 \text{ mg kg}^{-1}$  chez le canard.
- Chez les poissons :  $CL_{50}$  (96h)  $> 100 \text{ mg l}^{-1}$  chez la truite arc-en-ciel ;  $90 \text{ mg l}^{-1}$  chez la perche soleil ;  $> 100 \text{ mg l}^{-1}$  chez la carpe et  $49 \text{ mg l}^{-1}$  chez les guppies.
- Chez les abeilles :  $DL_{50}$  (orale et contact, 48 heures)  $> 99 \text{ } \mu\text{g/abeille}$ .
- Chez les Daphnies :  $CE_{50}$  (48h)  $> 100 \text{ mg l}^{-1}$  ;  $CE_{50}$  (21 jours) =  $0,29 \text{ mg l}^{-1}$ .
- Chez les vers de terre :  $CL_{50}$  (14 jours)  $> 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ .

**Comportement dans l'environnement :**

- Sol et eau : Dans le sol, l'activité microbienne est à l'origine de la dégradation d'une quantité significative de simazine. Sa demi-vie est dans les sols est comprise entre 27 et 102 jours (Strandberg et Scott-Fordsmand, 2002). Elle est dégradée en déisopropylatrazine (DIA) elle-même rapidement décomposée en produits bidéalkylés (Mills et Thurman, 1994). Les pertes par décomposition ou volatilisation ne sont pas significatives. Les infiltrations ou le lessivage sont limités par la faible solubilité de la simazine. De nombreux mois après l'application, la majeure partie de la dose se retrouve dans les dix premiers centimètres (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000).
- Plantes : Chez les plantes tolérantes, la simazine est facilement métabolisée en 6-hydroxysimazine (herbicide inactif) et en acides aminés. L'hydroxysimazine est ensuite décomposée par dégradation des chaînes latérales et hydrolyse des acides aminés restants sur le cycle. Chez les plantes sensibles, la simazine non altérée s'accumule engendrant des chloroses et la mort (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000).
- Animaux : Chez les Mammifères, après une administration orale, 65 à 97 % de la simazine est éliminée en 24 heures sous forme de métabolites dé-éthylés (Adams *et al.*, 1990). Pour des faibles doses, chez le rat, l'élimination se fait principalement par les urines ; pour des doses plus élevées, l'élimination se fera par les fèces. Son excrétion est rapide : 90% en 48 heures. La

métabolisation de la simazine se fait principalement en déséthylsimazine et en bis-déséthylsimazine (diaminochlorotriazine) (British Crop Protection Council, Royal Society of Chemistry, 2000).

#### I.2.2.4.iii. Bioaccumulation

L'atrazine et la simazine sont non seulement peu solubles (solubilité de 33 mg l<sup>-1</sup> pour l'atrazine et de 5 mg l<sup>-1</sup> pour la simazine) mais elles ont également un faible coefficient octanol-eau (log Kow = 2,7 pour l'atrazine et 2,3 pour la simazine). Ces caractéristiques leur confèrent une faible tendance à s'accumuler dans les organismes. Pourtant, Hedgecott (1996) a conclu que les données expérimentales étaient insuffisantes pour confirmer ceci. En effet, seules deux études avaient été menées sur l'atrazine et aucune sur la simazine.

Jones *et al.* (1986) ont montré que l'absorption de l'atrazine par la plante estuarienne *Potamogeton perfoliatis* depuis l'eau était rapide et atteignait un équilibre après 15 minutes d'exposition à 20 à 100 µg l<sup>-1</sup>. De plus, lorsque la plante était placée dans une eau sans contaminants, sa décontamination se faisait assez rapidement puisque 45% de l'atrazine étaient relargués en deux heures.

Pillai *et al.* (1979) ont nourri des crabes *Sesarma cinereum* avec une plante : *Spartina alterniflora* ayant réalisé une croissance de deux jours en présence de 0,2 mg l<sup>-1</sup> d'atrazine marquée suivi par trois jours dans une eau sans contaminants. Les crabes ont ingéré en moyenne 15µg d'atrazine kg<sup>-1</sup> j<sup>-1</sup> pendant dix jours. Aucun effet comportemental ni physiologique n'a été observé. Au total, 0,61 mg d'atrazine et de ses métabolites ont été consommés par kilo de crabe. 0,21 mg kg<sup>-1</sup> ont été rejetés par les fèces et des analyses réalisées sur les crabes entiers ont donné des concentrations de 0,4 mg kg<sup>-1</sup>. La disparition d'une grande partie de l'atrazine semble indiquer que les crabes métabolisent l'atrazine. La capacité de certaines plantes et de certains animaux, particulièrement les crustacés, à métaboliser l'atrazine suggère que la biomagnification de l'atrazine en elle-même dans les chaînes alimentaires n'est pas très étendue. Cependant, il n'est pas impossible que ses métabolites (comme l'atrazine déséthyle par exemple) puisse y demeurer plus longtemps.

Au niveau des estuaires français, quelques études ont été réalisées sur l'atrazine et la simazine mais uniquement dans les eaux (Readman *et al.*, 1993 ; Tronczynski *et al.*, 1999).

**Par rapport à leurs propriétés physico-chimiques et à leur faible capacité d'adsorption et de bioaccumulation, il semble peu probable que nous puissions trouver des niveaux importants d'atrazine déséthyle, d'atrazine et de simazine dans les sédiments et dans le biota. Cependant, étant donné qu'encore aucune étude n'a mis réellement en évidence l'absence de ces composés dans ces milieux, il nous a semblé intéressant de tout de même les rechercher.**

La présente étude porte donc sur deux types de contaminants très différents. Les premiers, les retardateurs de flamme, s'accumulent très facilement dans les sédiments et les organismes alors que les seconds, les triazines, s'y accumulent beaucoup moins.

Les PBB et les PBDE à analyser ont été retenus par rapport à leur omniprésence et leur stabilité dans l'environnement ainsi qu'à la disponibilité des substances chez les fournisseurs (ces produits commençaient juste à être étudiés au début de ce travail et les standards n'existaient pas pour tous les congénères). Les triazines ont été choisies par rapport à leur présence régulière dans les mesures de potabilité. De plus, plusieurs de ces molécules sont inscrites sur la liste des substances prioritaires (Décision n° 2455/2001/CE du Parlement Européen et du Conseil, 2001) et sont déjà interdites de fabrication et d'emploi. Le choix s'est donc porté sur :

- Les PolyBromoBiphényles (PBB) :
  - BB-15 (DiBromoBiphényle)
  - BB-153 (HexaBromoBiphényle)
  - BB-189 (OctaBromoBiphényle)
  - BB-209 (DecaBromoBiphényle)
- Les PolyBromoDiphénylEthers (PBDE) (annexe 3) :
  - BDE-28 (TriBromoDiphénylEther)
  - BDE-47 (TetraBromoDiphénylEther)
  - BDE-99 et BDE-100 (PentaBromoDiphénylEthers)
  - BDE-153 et BDE-154 (HexaBromoDiphénylEthers)
  - BDE-209 (DecaBromoDiphénylEther)
- Les triazines :
  - atrazine
  - atrazine déséthyle
  - simazine



**II**

**MATERIELS ET METHODES**



Le travail de mise au point des techniques analytiques est très important puisque la qualité analytique conditionne la validité des résultats. Ce sujet nécessitait une optimisation de la méthode de dosage des BFR permettant de réduire le temps et le coût d'analyse et surtout de minimiser sensiblement les phénomènes chimiques et spectraux pouvant engendrer des interférences. En effet, toutes les techniques employées jusqu'à aujourd'hui étaient, la plupart du temps, longues et fastidieuses. C'est donc dans une optique de simplification que la méthode d'analyse a été complètement revue et améliorée.

Différentes étapes de traitement des échantillons doivent être réalisées afin de pouvoir quantifier les contaminants présents dans les matrices :

- une étape de préparation
- une étape d'extraction
- une étape de purification
- une étape de dosage

Toutes ces étapes ont été étudiées en détail afin de pouvoir élaborer un protocole analytique permettant de doser de façon spécifique les molécules présentes dans les différents échantillons.

## **I.1. Historique / état des lieux**

De nombreuses publications font aujourd'hui état des différentes techniques d'analyse des BFR et des triazines. Une synthèse des techniques les plus courantes a été réalisée.

### **I.1.1. L'analyse des PBB et des PBDE**

Les PBB et les PBDE sont séparés de leurs matrices par une extraction à l'aide de solvants organiques. La majorité des extractions se réalisent au Soxhlet avec différents solvants tels que l'acétone, l'acétate d'éthyle, le n-hexane, l'éthyl-éther, l'éther de pétrole, le dichlorométhane, le toluène, le cyclohexane, le méthanol, ...employés seuls ou par deux (ATSDR, 2002). Cependant, depuis quelques années, de nouvelles techniques d'extraction sont apparues : extraction par micro-onde (Bayen *et al.*, 2004 ; Naert et Van Peteghem, 2004), extraction par fluide supercritique (Hartonen *et al.*, 1997 ; Janssen et Lou 1999 ; Lindström *et*

*al.*, 1997 ; Lindström *et al.*, 1998 ; Van Bavel *et al.*, 1999), extraction liquide pressurisée (De La Cal, 2003) ou extraction accélérée par solvant (Hale *et al.*, 2001 ; Saito *et al.*, 2004).

Les purifications sont nécessaires pour éliminer les composés tels que les graisses dans le biota ou les sulfures dans les sédiments, qui pourraient engendrer une interférence lors de l'analyse. La méthode de purification la plus courante consiste à faire passer l'extrait à travers une colonne contenant un gel de silice (Pettersson et Karlsson, 2001). Le Florisil (mélange de 84% de silice, 15,5% d'oxyde de magnésium et 0,5% d'oxyde de sodium) et l'AlOx (oxyde d'aluminium) sont également fréquemment utilisés comme adsorbant et sont utiles pour éliminer les lipides résiduels (Pettersson et Karlsson, 2001 ; Hyötyläinen et Hartonen, 2002). L'association d'AgNO<sub>3</sub> permettant de supprimer les sulfures ou d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> permettant d'éliminer les graisses est également souvent employée (Loganathan *et al.*, 1995 ; Lindström *et al.*, 1999 ; Sjödin *et al.*, 1999b).

La technique d'analyse des PBB et des PBDE la plus courante est la chromatographie gazeuse associée à différents types de détecteurs. La bibliographie fait donc état de :

- la chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons (GC-ECD) (Burse *et al.*, 1980 ; Pijnenburg *et al.*, 1995 ; Hartonen *et al.*, 1997 ; Yamamoto *et al.*, 1997 ; Asplund *et al.*, 1999 ; Sjödin *et al.*, 2001 ; ATSDR, 2002).
- la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse en mode ionisation chimique négative (GC-MS/NCI) (Jannsson *et al.*, 1991, 1993 ; Nylund *et al.*, 1992 ; Sellström *et al.*, 1993, 1998b ; Pettersson et Karlsson, 2001).
- la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse en mode impact électronique (GC-MS/EI) (Watanabe *et al.*, 1987 ; Lindström *et al.*, 1998, 1999 ; Meironyté *et al.*, 1999 ; Meneses *et al.*, 1999 ; Burreau *et al.*, 2000b).
- la chromatographie en phase gazeuse haute résolution couplée à un spectromètre de masse haute résolution (HRGC-HRMS) (Cramer *et al.*, 1990 ; Kuehl *et al.*, 1991 ; Loganathan *et al.*, 1995 ; Takasuga *et al.*, 1995)
- la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse haute résolution (GC-HRMS) (Alaee *et al.*, 2001 ; Sakai *et al.*, 2001 ; Ikonomou *et al.*, 2002 ; Ohta *et al.*, 2002).
- la chromatographie en phase gazeuse haute résolution couplée à un spectromètre de masse basse résolution (HRGC-MS) (Jaffe *et al.*, 1985 ; Meironyté *et al.*, 1999 ; Ohta *et al.*, 2002).

Le Deca-BB est peu volatile et son analyse nécessite une colonne de chromatographie courte et un fort débit de gaz vecteur (Farrell, 1980). Une courte colonne de chromatographie est également nécessaire pour doser le Deca-BDE qui, lui, est très volatile (De Boer *et al.*, 2003). Cette technique permet de ne pas l'exposer trop longtemps à de fortes températures.

### **I.1.2. L'analyse des triazines**

Les contaminants organiques tels que les triazines sont souvent présents à de très faibles concentrations dans l'environnement et leur dosage est donc très délicat. L'emploi de la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) ou Liquide (CPL) couplée à la Spectrométrie de Masse (SM) permet d'obtenir de bons résultats. Le Laboratoire Départemental d'Hydrologie et d'Hygiène d'Angers dose, dans le cadre du contrôle sanitaire, les pesticides organoazotés dans les eaux et la technique employée pour analyser, entre autres l'atrazine, l'atrazine déséthyle et la simazine a été mise au point grâce à plusieurs études internes (Fournier *et al.*, 1998, 1999a et 1999b). Cependant, les matrices étudiées ici sont différentes et malgré le fait qu'il existe de nombreuses publications sur l'analyse de ces contaminants dans les eaux, il n'en existe que très peu sur leur dosage dans les organismes.

En ce qui concerne les sédiments, la plupart des auteurs réalisent dans un premier temps un séchage de la matrice à laquelle est ensuite additionné un ou plusieurs solvants tels que le n-hexane, l'acétone, le dichlorométhane le méthanol ou l'acétonitrile (Prosen *et al.*, 1995 ; Gao *et al.*, 1997 ; Perez-Ruzafa *et al.*, 2000 ; Gfrerer *et al.*, 2002 ; Cserhati *et al.*, 2004). Le mélange est soit agité, soit soumis à un bain d'ultrasons afin que les triazines passent de la matrice au solvant. Une étape de purification a lieu sur cartouches de silice auxquelles peuvent être ajoutées des cartouches contenant du cuivre (Gao *et al.*, 1997) ou de l'alumine (Dabrowska *et al.*, 2003 ; Cserhati *et al.*, 2004) pour éliminer les sulfures.

Les extractions des triazines dans d'autres matrices ne sont pas très différentes de celles dans les sédiments. Les matrices sont séchées, broyées et additionnées de solvants tels que le dichlorométhane, le méthanol, l'éther de pétrole, l'acétonitrile, l'acétate d'éthyle, l'acétone ou l'hexane (Ramsteiner *et al.*, 1974 ; Bailey et LeBel, 1978 ; Roseboom et Herbold, 1980 ; Andersson et Ohlin, 1986 ; Battista *et al.*, 1989 ; Wittmann et Hock, 1993 ; Pardue, 1995 ; Muñoz et Rosés, 2000 ; Perez-Ruzafa *et al.*, 2003). L'ensemble peut être agité ou peut être extrait par Soxhlet (Muñoz et Rosés, 2000), par fluide supercritique (SFE) (Camel, 1998 ; Cserhati *et al.*, 2004) ou par solvant accéléré (ASE) (Ezzelle, 2000 ; Chuang *et al.*, 2001 ; Hauser

*et al.*, 2004). L'extrait de solvant est collecté et purifié si nécessaire sur cartouches de Florisil ou d'alumine (Ramsteiner *et al.*, 1974 ; Perez-Rusafa *et al.*, 2000).

Trois grandes techniques de dosage ont été recensées :

- le dosage par GC-MS (Gfrerer *et al.*, 2002 ; Cserhati *et al.*, 2004 ; Hauser *et al.*, 2004).
- le dosage par HPLC (Chromatographie Liquide Haute Pression) (Battista *et al.*, 1989 ; Ely *et al.*, 1993 ; Wittmann et Hock, 1993 ; Ortiz-Gomez *et al.*, 1995 ; Prosen *et al.*, 1995 ; Gao *et al.*, 1997 ; Muñoz et Rosés, 2000 ; Cserhati *et al.*, 2004).
- le dosage par immunoessais (Wittmann et Hock, 1993 ; Perez-Ruzafa *et al.*, 2000).

## **I.2. Comment améliorer les différentes parties analytiques ?**

### **I.2.1. Les différentes étapes de traitement des échantillons**

#### **I.2.1.1. La préparation des échantillons**

Dans la plupart des études menées sur des échantillons de sols, de sédiments ou de tissus biologiques, les matrices subissent une étape préliminaire de séchage afin d'éliminer le plus d'eau possible (Hyötyläinen et Hartonen, 2002 ; WHO/ICPS, 1994b ; norme XP X 33-012, 2000). En effet, le fait de sécher l'échantillon permet non seulement de concentrer les molécules recherchées mais également de pouvoir conserver les échantillons. Cette étape peut se faire manuellement en ajoutant des produits absorbant l'humidité comme la terre de diatomée ou le sulfate de sodium mais peut également être réalisée en plaçant les échantillons à l'étuve ou dans un lyophilisateur. L'inconvénient de l'étuve vient du fait qu'il est nécessaire de chauffer fortement les échantillons pour que l'eau s'évapore. Ce chauffage peut provoquer la perte des contaminants recherchés. La lyophilisation a, elle, l'avantage d'éliminer l'eau de la matrice sans la chauffer, en passant directement de l'état solide à l'état gazeux par sublimation. Les contaminants subsistent ainsi dans l'échantillon. Cette dernière technique a donc été retenue.

Les échantillons ont été lyophilisés pendant environ 48 heures à  $-28^{\circ}\text{C}$  et 0,470 mbar (jusqu'à un retour à température ambiante) dans un lyophilisateur CRIST LOC-1m Alpha 1-4 puis ont été broyés au mortier pour les sédiments et à l'aide d'un mixeur pour les échantillons biologiques afin d'obtenir un mélange homogène. Des pesées ont été réalisées avant et après sur une balance de précision Sartorius AC211P afin de déduire le taux de matière sèche.

### **I.2.1.2. L'extraction des molécules recherchées**

Les extractions permettent de réaliser le transfert d'un composé initialement contenu dans une phase liquide ou solide vers une phase non miscible au premier milieu. Le principe est fondé sur la distribution du soluté entre les deux phases en fonction de son affinité pour chacune d'elles selon un coefficient de partage. La connaissance de ce dernier permet de choisir le meilleur solvant.

Les techniques d'extraction sont classées en deux catégories : l'extraction liquide/liquide et l'extraction liquide/solide. Cette dernière, qui nous intéresse plus particulièrement, peut se faire de différentes façons : par Soxhlet, par ASE ou par micro-onde. Le Soxhlet est généralement utilisé car c'est un appareil peu coûteux que tous les laboratoires peuvent acquérir. L'ASE est de plus en plus utilisée mais son prix reste encore un frein à son emploi. L'extraction assistée par micro-onde est souvent utilisée car elle est rapide, économique (elle ne nécessite que peu de solvant) et reproductible. Le micro-onde MARS X de CEM a donc été choisi afin de réaliser l'extraction des contaminants dans les sédiments. En ce qui concerne les échantillons biologiques, le système d'extraction universel BÜCHI B-811 basé sur le mode du Soxhlet mais entièrement automatisé et permettant une extraction six fois plus rapide a été retenu.

### **I.2.1.3. La purification**

Différentes techniques existent pour purifier un échantillon liquide. L'extraction en phase solide (Solid Phase Extraction : SPE) semble être une bonne solution. Elle consiste à faire passer le solvant récupéré après extraction sur une colonne de purification remplie d'une ou de plusieurs phases qui vont soit retenir les molécules recherchées (un rinçage permettra ensuite de les désorber pour les récupérer) ; soit ne faire passer que les molécules qui nous intéressent. Cette deuxième solution a été retenue.

Cette purification se compose de trois étapes : le conditionnement de la colonne permettant d'assurer des interactions reproductibles avec l'analyte ; le dépôt de l'échantillon et l'élution avec un solvant approprié. Cette technique permet de sélectionner les molécules recherchées et de les récupérer dans un volume de solvant réduit.

Le choix de la ou des phases est donc important et doit permettre d'extraire les molécules recherchées.

#### **I.2.1.4. L'analyse**

Le laboratoire possède deux appareils permettant l'analyse des composés recherchés : un Chromatographe en phase Gazeuse couplé à un Spectromètre de Masse (GC-MS : GC VARIAN Star 3400 CX équipé du détecteur MS VARIAN SATURN 2000 à trappe d'ions et d'un passeur d'échantillons Varian CP-8200, le logiciel de pilotage et d'acquisition des données est le VARIAN SATURN 20005.51) et un Chromatographe en phase Gazeuse Couplé à un Détecteur de Capture d'Electrons (GC-ECD : GC Varian 3400 équipé d'un passeur d'échantillons VARIAN 8200 CX Autosampler). Ces deux appareils n'ont pas la même fonctionnalité et peuvent donc être utilisés de manière complémentaire. En effet, le premier permet de bien identifier les molécules de façon qualitative alors que le second permet de les doser quantitativement avec une meilleure sensibilité.

Avant toute analyse d'échantillons, il est bien évidemment nécessaire d'injecter les molécules directement afin de pouvoir étudier leurs caractéristiques.

### **I.2.2. Mise au point des techniques analytiques**

#### **I.2.2.1. Les échantillons de sédiments**

Les précédentes équipes scientifiques ayant réalisé des études sur les PBDE dans les sédiments ont utilisé des méthodes d'extraction, de purification et de dosage relativement différentes. Afin de choisir le meilleur protocole analytique possible pour l'analyse de nos contaminants, par rapport au matériel disponible au laboratoire, il nous a fallu répondre à plusieurs questions :

- Quels sont les solvants pour lesquels l'extraction est maximale ? Faut-il faire des mélanges ?
- Quelles sont les températures et les durées optimales d'extraction ?

##### *I.2.2.1.i. La méthode des plans d'expériences*

Afin de répondre à ces questions, la technique des plans d'expériences a été choisie. Cette méthode date du début du siècle dernier (Fisher, 1935). Elle consiste à établir un plan d'expérimentation comportant le minimum d'expériences compte tenu du nombre de facteurs

limitant et des réponses souhaitées tout en apportant le maximum de précision dans les résultats. Le principe de la méthode consiste à ne pas étudier toutes les combinaisons possibles mais seulement certains points choisis pour leur particularité d'orthogonalité. Ce plan permettra non seulement de connaître l'influence des facteurs mais également les éventuelles interactions entre certains de ces facteurs. Il permettra une interprétation rapide des résultats des essais en fournissant un modèle expérimental du système étudié. Les principaux avantages de ce type de plans sont la diminution du nombre d'essais, la possibilité d'étudier un grand nombre de facteurs, la détection d'éventuelles interactions entre les facteurs, la modélisation aisée des résultats et la bonne précision des résultats obtenus. La stratégie retenue était celle de la recherche d'extremum dont l'objectif est de déterminer parmi de très nombreux facteurs reconnus limitant et influant, les meilleures conditions opératoires dans un processus analytique.

La liste des expériences et le nombre de répétitions à réaliser sont déterminés. Il faut cependant être attentif à ce que toutes les expériences soient réalisées dans des conditions semblables pour éviter qu'un facteur non pris en compte vienne perturber l'étude. L'interprétation des résultats consiste à les analyser en fonction de la stratégie retenue, à sélectionner les niveaux des facteurs donnant des résultats optimaux et à calculer la réponse théorique pour la configuration optimale. Elle devra valider les résultats obtenus et vérifier la cohérence des essais. Il est donc nécessaire de vérifier que la prédiction donnée par le modèle ne s'éloigne pas trop de la réalité.

#### *1.2.2.1.ii. Optimisation de la procédure d'analyse*

Une contamination de sédiments prélevés dans un étang proche du laboratoire a été réalisée. 408g de sédiments frais ont été déposés sur une boîte de Pétri en verre et ont été contaminés avec 300 $\mu$ l de chaque solution mère de PBDE à 10 mg l<sup>-1</sup> (BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154 et -209 ACCU STANDARDS INC., USA). L'ensemble a été mélangé le plus uniformément possible pendant 15 à 20 min puis a été placé 24 heures en chambre froide afin de favoriser l'adsorption des contaminants sur le sédiment. L'ensemble a été ensuite à nouveau mélangé pendant 10 minutes puis lyophilisé. Le poids du lyophilisat obtenu était de 151,51 g ce qui représentait une concentration de 19,9 ng g<sup>-1</sup>, ps.

Afin d'obtenir le mélange de solvants permettant une extraction maximale des contaminants, un premier plan d'expérience a été réalisé. Il a consisté à faire varier les volumes des trois solvants les plus souvent utilisés pour l'extraction des PBDE dans les études réalisées

précédemment : l'acétone (Aceton Pestanal, RIEDEL DE HAËN), le dichlorométhane (Dichloromethan pour analyses MERCK , DCM) et le n-hexane (n-hexan Pestanal, RIEDEL DE HAËN).

La norme française XP X 33-012 (2000) a servi de base à l'expérience. Une prise d'essai d'environ 5g de sédiment lyophilisé est introduit dans un matra (bombe de Parr) et chaque bombe reçoit un mélange déterminé par un plan d'expérience (Tableau XV). L'extraction par micro-onde est réalisée avec la programmation suivante : montée à 80°C en 5 minutes puis palier de 15 minutes ; la température est contrôlée grâce à la sonde de température qui équipe une des bombes. Après refroidissement, 30 ml de surnageant sont prélevés et introduits dans un tube Zymark (200 ml – 1 ml Endpoint) pour être évaporés dans un concentrateur Zymark Turbovap II. 20µl de n-dodécane sont ajoutés afin d'empêcher la mise à sec complète. Les extraits sont ensuite repris dans de l'acétate d'éthyle (Ethyl Acetate RPE pour analyses CARLO ERBA) et purifiés sur colonne Florisil (cartouche en téflon bouchée par un coton et remplie de Florisil® MERCK). L'extrait est récupéré dans une fiole jaugée de 5ml auquel 20µl de PCB-180 à 5µg l<sup>-1</sup> sont ajoutés (étalon interne, Dr EHRENSTORFER). L'ensemble est à nouveau placé dans un tube Zymark, est évaporé jusqu'à un volume de 500 µl et est dosé.

Les rendements obtenus (moyennes de tous les congénères pour chaque essai) sont les suivant (tableau XV) :

**Tableau XV :** Plan d'expérience 1 faisant varier les volumes de solvants (ml) et rendements (%) obtenus pour chaque essai.

Essai	SOLVANTS (ml)			Rendement (%)
	Acétone	Dichlorométhane	Hexane	
<b>1</b>	25	5	5	<b>77,7</b>
<b>2</b>	15	5	15	<b>56,0</b>
<b>3</b>	5	25	5	<b>71,4</b>
<b>4</b>	5	15	15	<b>66,4</b>
<b>5</b>	5	5	25	<b>40,7</b>
<b>6</b>	15	15	5	<b>63,6</b>
<b>7</b>	25	5	5	<b>70,5</b>
<b>8</b>	15	15	5	<b>67,0</b>
<b>9</b>	15	5	15	<b>56,3</b>
<b>10</b>	5	25	5	<b>77,4</b>
<b>11</b>	5	15	15	<b>72,3</b>
<b>12</b>	5	5	25	<b>44,4</b>

Les résultats ainsi obtenus sont traités par le logiciel « StatGraphics ». Ce dernier facilite amplement les calculs matriciels et donne les valeurs optimums pour chacun des facteurs. Le mélange optimal suivant a donc été obtenu :

- 22,3 ml de dichlorométhane

- 7,7 ml de n-hexane
- 5 ml d'acétone

Afin de définir la température et la durée optimales d'extraction, un deuxième plan d'expérience a été réalisé (tableau XVI) :

**Tableau XVI :** Plan d'expérience 2 faisant varier la température (°C) et le temps d'extraction (min) et rendements (%) obtenus pour chaque essai.

Essai	Température (°C)	Temps (min)	Rendement (%)
1	70	15	80,4
2	80	20	89,6
3	80	15	79,3
4	90	15	77,5
5	90	20	82,5
6	80	15	79,8
7	80	15	76,1
8	70	10	82,0
9	80	15	85,2
10	80	10	74,6
11	70	20	86,9
12	90	10	83,4

Le traitement des résultats par le logiciel StatGraphics permet d'obtenir les valeurs suivantes :

- 70°C
- 20 minutes

L'ensemble de ces conditions permet d'obtenir un rendement de l'ordre de 89 à 93%. De précédentes études menées sur les BDE-47, -99 et -100 dans des sédiments contaminés ont montré des pourcentages de rendements allant de 106 à 140 % (Sellström *et al.*, 1998a). Les valeurs obtenues ici sont donc tout à fait satisfaisantes.

Une telle étude n'a pas été menée sur les triazines car ces composés ont la particularité de très peu s'adsorber aux particules de sédiments. Cependant, dans l'étude bibliographique réalisée sur les techniques d'analyse des triazines (II.1.2. L'analyse des triazines), les techniques et les solvants employés par les différents auteurs sont généralement assez similaires à ceux employés pour l'étude des BFR. De plus, les études effectuées au sein du Laboratoire Départemental d'Hydrologie et d'Hygiène dans des matrices solides (sédiments, boues d'épuration) ont révélé l'existence de produits organoazotés après traitement par lyophilisation. De ce fait, il a été admis que la lyophilisation n'engendrait pas de pertes de ces substances dont la structure est analogue à ces produits. Nous avons donc choisi d'utiliser la même technique pour doser ces différents types de contaminants.

*I.2.2.1.iii. Protocole définitif de dosage des triazines et des PBDE**dans les sédiments*

L'ensemble des études et des expériences a donc permis d'élaborer la procédure suivante pour le dosage des PBDE et des triazines dans les échantillons de sédiments :

- 1) Lyophiliser les échantillons : les études de rendement ayant donné de bons résultats, cette technique a été conservée.
- 2) Peser environ 5 g d'échantillon lyophilisé, le placer dans une bombe de Parr. Ajouter 22,3 ml de dichlorométhane, 7,7 ml d'hexane et 5 ml d'acétone (soit 35 ml de solvants). Placer un barreau aimanté et fermer la bombe.
- 3) Placer la sonde de température et introduire les bombes dans le four à micro-ondes. Lancer le programme détaillé dans le tableau XVII :

**Tableau XVII :** Description du programme d'extraction.

Puissance	Pourcentage	Rampe de température	Bar	Température	Vitesse d'agitation	Palier
600 W	100%	5 min	13,82	70°C	2	20 min

- 4) Laisser refroidir les bombes en chambre froide.
- 5) Récupérer 30 ml de surnageant et les placer dans un matras avec 20 µl de n-dodécane (MERCK) pour éviter l'évaporation à sec. Evaporer à moins d'1 ml.
- 6) Reprendre dans de l'acétate d'éthyle et passer sur colonne SPE de Florisil jusqu'à obtenir un peu moins de 5 ml.
- 7) Ajouter 20µl d'étalon interne (solution de Benfluraline (Dr EHRENSTORFER) et de PCB-180 à 5µg ml<sup>-1</sup>) à l'éluat obtenu. NB : la benfluraline sert d'étalon interne aux triazines et le PCB-180 sert d'étalon interne aux PBDE.
- 8) Evaporer quasiment à sec et reprendre dans 500µl d'acétate d'éthyle.
- 9) Mettre dans un vial et analyser.

### **I.2.2.2. Les échantillons biologiques**

La plupart des échantillons biologiques analysés contenaient un pourcentage important de graisse. Afin de pouvoir réaliser l'extraction des contaminants recherchés dans de tels tissus, un

protocole a été retenu. Il nous a été fourni par la société MACHEREY-NAGEL et concerne l'extraction et la purification des PCB et des pesticides dans les tissus gras (SPE-142).

#### *1.2.2.2.i. Extraction*

Le système d'extraction BÜCHI B-811 permet d'extraire la graisse d'un échantillon par passage d'un solvant, en l'occurrence l'éther de pétrole (PROLABO), dans la matrice sans dénaturation (annexe 4). Le solvant est chauffé à 90°C, s'évapore, monte jusqu'au refroidisseur et se condense. Il remplit alors la chambre d'extraction contenant l'échantillon à extraire jusqu'à atteindre le barrage photoélectrique. A ce moment là, le solvant repart dans le gobelet à solution. A la fin du processus, le solvant reste dans la chambre d'extraction alors que l'ensemble de la graisse est recueilli dans le gobelet à solution (annexe 4).

Dans la mesure du possible (suivant la quantité d'échantillon disponible), au moins 5g d'échantillons biologiques lyophilisés et mixés sont broyés avec du sable de Fontainebleau et un mélange contenant les deux étalons internes (Benfluraline et PCB-180) est ajouté à l'ensemble jusqu'à obtenir un ensemble bien homogène (*les tests de rendement obtenus dans le chapitre II.2.3. Vérification des techniques employées, permettent de considérer que la lyophilisation n'est pas à l'origine de pertes importantes de contaminants*). L'ensemble est placé dans une cartouche de cellulose entre deux couches de coton. Le processus décrit ci-dessus est répété pendant 2 heures avec 120 ml d'éther de pétrole pour analyses de traces (PROLABO) puis le gobelet, préalablement taré, est pesé pour déterminer le pourcentage de graisse présent dans l'échantillon. La chambre d'extraction est rincée, le solvant est récupéré puis évaporé jusqu'à ce qu'il ne reste plus que la graisse. Le poids de lipides est déterminé en faisant la différence entre le poids du gobelet avec la graisse et le poids du gobelet vide, en accord avec la norme française NF V 04-403 (AFNOR, 2001).

Environ 0,5g de graisse sont mélangés à 5 ml de n-hexane, sont placés dans un flacon ambré et sont chauffés à 50°C pendant 5 minutes afin d'obtenir une fusion de l'ensemble. La graisse est ensuite placée dans un congélateur pendant au moins 24 heures afin de séparer la phase graisseuse de la phase de solvant. Le mélange est alors lentement réchauffé à température ambiante en prenant garde de ne pas remettre en suspension la graisse précipitée.

#### I.2.2.2.ii. Purification

Trois colonnes de purification ont été choisies afin d'obtenir une purification maximale de nos produits :

- Les colonnes CHROMABOND<sup>®</sup> Kombi-Kit PCB : une colonne SiOH (3ml, 500 mg, MACHEREY-NAGEL) et une colonne SiOH-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/SA (3ml, 500/500 mg, MACHEREY-NAGEL) : matériau de base : silice, taille des pores : 60 Å, taille des particules : 45µm, surface spécifique : 500m<sup>2</sup>/g, stabilité du pH comprise entre 2 et 8.
- La colonne CHROMABOND<sup>®</sup> Alox N (6 ml, 1000 mg, MACHEREY-NAGEL) : matériau de base : oxyde d'aluminium neutre, volume des pores : 0,90 ml g<sup>-1</sup>, taille des particules : 60-150 µm, surface spécifique : 150 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, pH = 7 ± 0,5.

Chaque colonne est conditionnée avec un volume de colonne de n-hexane puis la colonne SiOH-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/SA est placée sur la colonne SiOH elle-même placée sur la colonne Alox N remplie d'1 ml de n-hexane. 0,5 ml du surnageant, présent dans le flacon ambré après congélation, est appliqué sur la colonne supérieure puis est élué avec du n-hexane. A la fin, la colonne Alox N est éluee avec 5 ml de Cyclohexane/Dichlorométhane (85 : 15, v/v) et tous les éluats sont combinés.

Les éluats sont ensuite concentrés, repris dans 100µl d'acétate d'éthyle et dosés.

#### **I.2.2.3. La Chromatographie en phase Gazeuse couplée à un Spectromètre de Masse (GC-MS).**

La chromatographie est une technique permettant la séparation de composés présents dans un mélange liquide ou gazeux. Le principe repose sur l'équilibre de concentrations des composés présents entre la phase stationnaire située dans la colonne et la phase mobile. Les constituants du mélange parcourent la colonne plus ou moins rapidement selon leurs propriétés (taille, structure,...) ou leur affinité avec la phase stationnaire (polarité). A la sortie de la colonne, un détecteur recense chaque composé du mélange.

Les triazines, les PBDE sauf le BDE-209 et les PBB sauf les BB-189 et BB-209 ont été quantifiés par cette méthode.

### *1.2.2.3.i. Description*

Il existe différentes méthodes chromatographiques se distinguant par la nature de leurs phases stationnaires et mobiles. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est l'une d'elles. Cette technique a été découverte par Martin et Synge dès 1941 lorsqu'ils travaillaient sur la chromatographie de partage (Arpino *et al.*, 1995). Elle s'applique aux échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés. L'échantillon est inséré dans l'injecteur (à l'aide d'une micro seringue) qui permet son évaporation et son transfert dans la colonne. Il existe différents types d'injecteurs tels que l'injecteur diviseur (ou "splitless" annexe 5) qui injecte seulement 10% de l'échantillon prélevé (afin d'éviter la saturation par le solvant) par un système de vannes et permet une analyse plus précise ou l'injecteur dit de "dépôt direct" (ou "on-column") qui permet une injection directe dans la colonne, sans pertes. C'est ce dernier type d'injecteur qui est utilisé au laboratoire. La phase mobile utilisée est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène) appelé gaz vecteur qui balaie en permanence la colonne située dans un four thermostaté. Il existe deux grands types de colonnes : les colonnes, remplies d'un granulé poreux, constituées d'un tube en métal de diamètre inférieur à 4 mm et de longueur 1 à 6 mètres et les colonnes capillaires composées d'une phase stationnaire remplie d'un film régulier (de 0,1 à 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) dont le diamètre varie de 0,05 à 6 mm et la longueur de 10 à 100 mètres (annexe 6). Si la phase stationnaire est liquide, on parle de chromatographie de partage ; si elle est solide, on parle de chromatographie d'adsorption. A la sortie de la colonne, un détecteur donne un signal au passage de chaque constituant du mélange. Il existe des détecteurs signalant tous les types de composés (catharomètres, ionisation de flamme,...) et des détecteurs spécifiques sensibles à certaines famille de composés (capture d'électrons, thermoionique, photomètre de flamme,...).

En couplage avec la Chromatographe en phase Gazeuse (GC), la spectrométrie de masse (MS) permet l'analyse structurale des molécules organiques. Les molécules, qui sortent séparées de la colonne chromatographique, sont entraînées par le gaz vecteur dans l'analyseur de masse. Elles atteignent d'abord la chambre d'ionisation où elles sont bombardées par un faisceau d'électrons (impact électronique). Les molécules acquièrent alors une charge (elles deviennent des paires d'ions) ainsi qu'un excédent d'énergie. Sous l'action de l'énergie fournie, les ions se fragmentent différemment en fonction de leur structure moléculaire d'origine. Les ions triés sont extraits de l'analyseur, sont convertis en électrons et le signal est amplifié sur le multiplicateur d'électrons. Le spectre de masse obtenu est un diagramme présentant sur l'axe horizontal le rapport masse sur charge des fragments ( $m/z$ ) et sur l'axe vertical l'intensité du signal (annexe 7).

La GC-MS est très efficace sur des molécules présentes en grandes quantités mais ne convient pas très bien pour de faibles concentrations puisque les pics représentatifs des produits se trouvent généralement masqués par du bruit de fond dû, principalement, aux composés constituant la colonne qui se désagrègent avec le temps et les cycles de températures. Le couplage MS/MS permet de résoudre ce problème. Cette technique consiste à fractionner deux fois la molécule afin de pouvoir la caractériser par rapport à ses ions fils et non plus par rapport aux amas de pics qu'elle peut générer en mode MS seul. La mise au point de cette analyse nécessite plusieurs étapes qui seront décrites dans les sections suivantes.

*1.2.2.3.ii. Caractérisation des molécules mères par injection en EI (Impact électronique) sans préparation des ions.*

Cette première étape permet de visualiser les spectres des molécules. Elle permet de déterminer le temps de rétention de la molécule ainsi que son ion parent majoritaire. Une colonne Optima 5-MS de MACHEREY-NAGEL, 30 m x 0,25 mm diamètre interne (1 µm épaisseur de film) a été utilisée avec de l'hélium comme gaz vecteur à 18 psi. Les conditions chromatographiques sont les suivantes : volume d'injection : 1 µl ; mode on-column ; température de l'injecteur : 320°C ; température du four programmée de 80°C à 110°C (maintenue pendant 1 min) à raison de 25°C/min, puis de 110°C à 180°C (maintenue pendant 1 min) à raison de 15°C/min et enfin de 180°C à 320°C (maintenue pendant 5,48 min) à raison de 3°C/min soit un temps total de chromatographie de 60 min.

*Exemple* : le BDE-47 a un temps de rétention d'environ 42,162 minutes et son ion parent majoritaire a un rapport m/z de 486 (le rapport m/z correspond au poids moléculaire de la molécule).

*1.2.2.3.iii. Injection des molécules en mode AMD (Développement en mode automatique) Résonnant et Non-Résonnant.*

Cette méthode va permettre un fractionnement plus ou moins important de la molécule mère suivant le mode choisi et dans une fenêtre de temps correspondant à la sortie du produit (annexe 8). Le balayage de cette fenêtre s'effectue en séries de dix canaux correspondant à des amplitudes d'excitation allant de 0,1 à 1 Volt en mode résonnant et de 25 à 70 Volts en mode non-résonnant. Le mode résonnant va engendrer un plus grand fractionnement que le mode non-résonnant. Chaque mode va nous permettre d'obtenir un spectre caractéristique de la molécule

avec ses ions fils. Si plusieurs molécules sortent aux alentours des mêmes temps de rétention, il est nécessaire de les injecter séparément afin de ne pas obtenir d'interactions entre les molécules.

#### *1.2.2.3.iv. Comparaison des spectres en Résonnant et Non-Résonnant*

Pour chaque spectre obtenu, il faut balayer les dix canaux afin de choisir le canal permettant d'obtenir le spectre le plus représentatif ; c'est-à-dire celui où les ions fils sont bien caractérisés et où il y a le moins de bruit de fond.

*Exemple :* Le BDE-47 ne se fractionne pas du tout en mode non-résonnant et seule la molécule mère apparaît. Par contre, en mode résonnant, le fractionnement est meilleur notamment au niveau du canal 9 (0,9 V) et fait apparaître des ions fils caractéristiques : fragments avec des rapports m/z de 324, 326 et 484.

#### *1.2.2.3.v. Construction de la méthode MS/MS suivant les paramètres étudiés précédemment*

Pour chaque produit il va donc falloir construire la méthode en respectant les caractéristiques trouvées précédemment : choisir une fenêtre de temps correspondant au temps de rétention du produit, choisir une fenêtre de rapport m/z permettant aux fragments des molécules d'apparaître, conserver le mode d'ionisation par impact électronique (EI), choisir comme préparation d'ion MS/MS, choisir le mode résonnant ou non-résonnant ainsi que l'amplitude d'excitation. Si plusieurs molécules sortent en même temps il faut choisir le mode MRM (Contrôle des Réactions Composées) afin d'attribuer un canal pour chaque molécule. Cette méthode est représentée dans les tableaux ci-dessous (tableaux XVIII et XIX) et correspond aux données à entrer dans le logiciel de pilotage.

**Tableau XVIII:** Tableau de préparation des ions pour la méthode MS/MS.

Segment	Masse de l'ion parent (m/z)	Fenêtre d'isolation (m/z)	Mode	Niveau de stockage d'excitation (m/z)	Amplitude d'excitation (volts)
Atrazine déséthyle	172	3	Résonnant	75,7	0,5
Benfluraline (EI)	292	3	Résonnant	128,8	0,7
Simazine	201	3	Non-Résonnant	66,3	55
Atrazine	215	3	Non-Résonnant	70,9	45
BB-15	312	3	Résonnant	137,6	0,9
BDE-28	406	3	Résonnant	179,0	0,9
PCB-180 (EI)	394	3	Résonnant	173,9	0,8
BDE-47	486	3	Résonnant	214,6	0,9
BB-153	628	3	Résonnant	277,4	0,9
BDE-100	564	3	Résonnant	249,1	0,9
BDE-99	564	3	Résonnant	249,1	0,9
BDE-154	646	3	Résonnant	285,3	1
BDE-153	646	3	Résonnant	285,3	1

**Tableau XIX:** Programmation des segments du chromatogramme pour la méthode MS/MS.

Description du segment	Début (min.)	Fin (min.)	Faible masse (m/z)	Haute masse (m/z)	Mode d'ionisation	Préparation de l'ion
Délai avant analyse	0	15	40	650	Aucun	Aucune
Atrazine déséthyl + Benfluraline	15	18,5	45	305	EI Auto	MRM
Simazine + atrazine	18,5	21,5	45	215	EI Auto	MRM
Section sans composé à analyser	21,5	34	45	410	Aucun	Aucune
BB-15	34	37,5	45	400	EI Auto	MS/MS
BDE-28	37,5	42	45	500	EI Auto	MS/MS
PCB 180 + BDE-47	42	46	45	500	EI Auto	MRM
Section sans composé à analyser	46	49	45	230	Aucun	Aucune
BB-153 + BDE-100	49	51,5	45	600	EI Auto	MS/MS
BDE-99	51,5	55	45	600	EI Auto	MS/MS
BDE-154	55	57,5	45	650	EI Auto	MS/MS
BDE-153	57,5	59,5	45	650	EI Auto	MS/MS
Fin du programme	59,5	60	40	250	Aucun	Aucune

I.2.2.3.vi. Essai d'injection

L'injection d'un échantillon test permet de vérifier que toutes les molécules recherchées sortent bien dans les temps choisis et que leurs spectres sont corrects. Afin d'affiner encore la technique, il est nécessaire de tester les différentes combinaisons d'ions fils afin de trouver celle qui permet d'obtenir le meilleur rapport signal/bruit de fond (S/N) (tableau XX).

Exemple : Les ions les plus représentatifs du BDE-47 sont les ions 324 et 326 donnant un S/N de 1414.

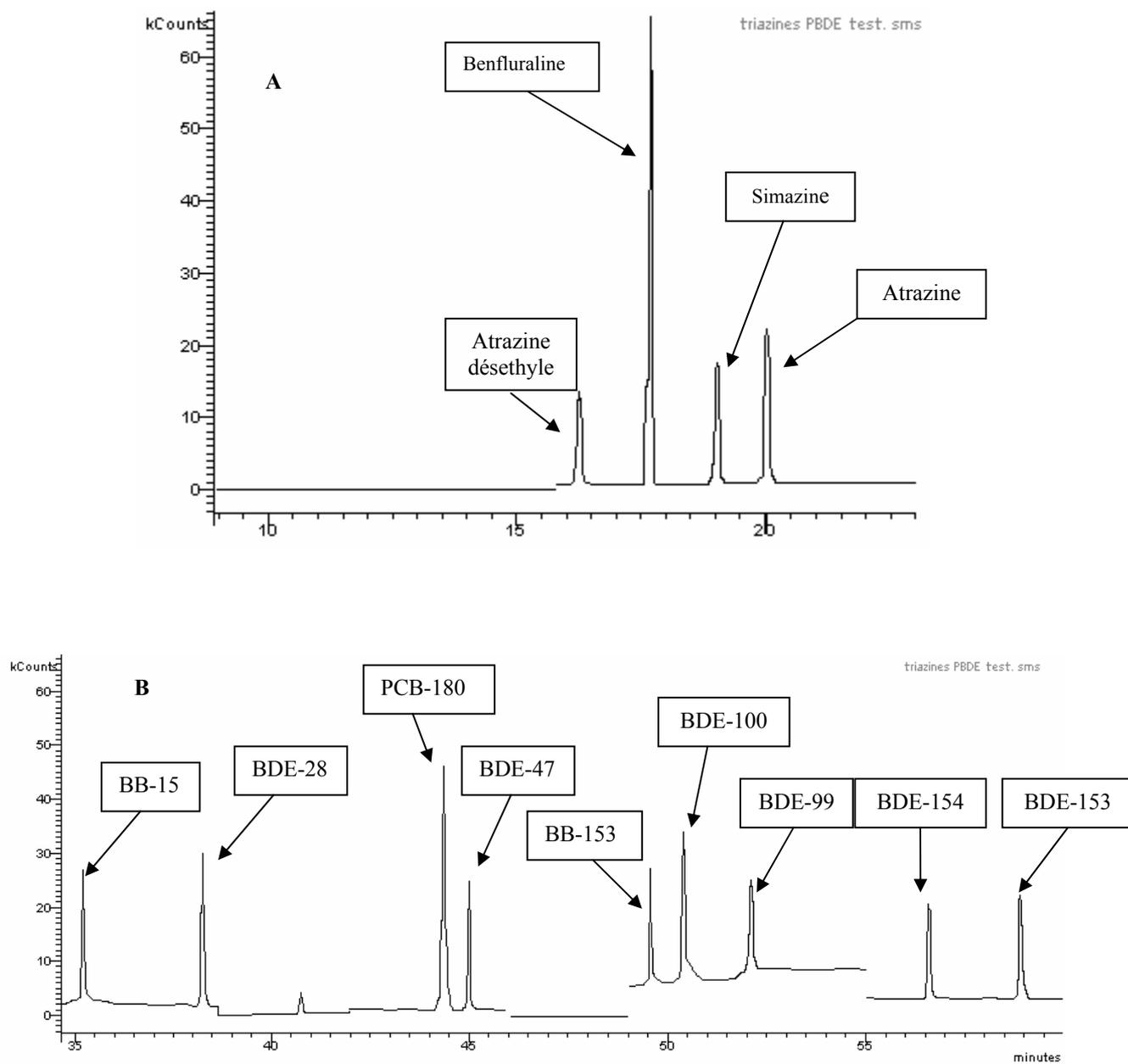
**Tableau XX** : Pics les plus représentatifs de chaque composé permettant le retraitement des données.

<b>Composés</b>	<b>Pics fils représentatifs (S/N élevé)</b>
<b>Atrazine déséthyle</b>	105+130+173
<b>Benfluraline</b>	206+264
<b>Simazine</b>	138+186
<b>Atrazine</b>	138+200
<b>BB-15</b>	232 + 152
<b>BDE-28</b>	246 + 404
<b>PCB-180 (EI)</b>	359
<b>BDE-47</b>	324+326
<b>BB-153</b>	549 + 468
<b>BDE-100</b>	404+562
<b>BDE-99</b>	404+406+562
<b>BDE-154</b>	484+486
<b>BDE-153</b>	484+486

Pour chaque série d'analyse, des courbes de calibration ont été réalisées pour chaque congénère à partir de cinq solutions standards ayant des concentrations allant de 10 à 200  $\mu\text{g l}^{-1}$  (10, 25, 50, 100 et 200  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). Ces standards ont été préparés à partir de solutions pures d'atrazine, de simazine, d'atrazine déséthyle (Dr EHRENSTORFER), de BB-15, de BB-153 (CHEMSERVICE INC), de BDE-28, de BDE-47, de BDE-99, de BDE-100, de BDE-153, de BDE-154 (ACCUSTANDARDS INC., USA). Les limites de quantification déterminées pour ces molécules étaient de 1  $\text{ng g}^{-1}$ , ps dans les sédiments et de 2  $\text{ng g}^{-1}$  de lipides dans le biota.

*NB : Le PCB-180, utilisé comme étalon interne, est un contaminant présent dans l'environnement. Afin de ne pas engendrer de sous-estimation des concentrations de PBB et PBDE mesurées, l'aire du pic du PCB-180 dans les standards et les contrôles qualité est prise comme référence et comparée systématiquement à l'aire obtenue dans les échantillons. Une correction est ensuite réalisée si nécessaire.*

Les chromatogrammes des différents composés recherchés sont présentés dans les figures 23 a et b.



**Figure 23 :** Chromatogrammes des différents composés obtenus par GC-MS/MS. A) Triazines, B) PBDE et PBB.

#### **I.2.2.4. La Chromatographe en phase Gazeuse Couplée à un Détecteur d'Electrons (GC-ECD)**

##### *I.2.2.4.i. Principe*

Le principal point qui distingue la GC-MS de la GC-ECD est le type de détecteur. Le détecteur à capture d'électrons est très sensible aux dérivés halogénés et est souvent utilisé dans l'analyse de pesticides.

Le principe de la GC-ECD est le suivant (Mahuzier et Hamon, 1997 ; Rouessac et Rouessac, 2000) : un courant d'azote (gaz vecteur) traverse la colonne de chromatographie puis est ionisé par un flux d'électrons généré au moyen d'une source radioactive émettant des rayons  $\beta$  de faible énergie (15 mCi de  $^{63}\text{Ni}$ ). Ce courant passe ensuite entre deux électrodes soumises à une différence de potentiels d'une centaine de volts, de telle sorte qu'il s'établit, au repos, un courant, le courant de base, dû essentiellement aux électrons libres, très mobiles. Si des molécules contenant un halogène (F, Cl ou Br) traversent la zone entre les deux électrodes, elles captent une partie des électrons pour former des ions négatifs moléculaires ou des molécules neutres moins mobiles. Ces ions moléculaires négatifs ont une grande probabilité de combinaison avec les ions positifs du gaz pur ce qui diminue d'autant les ions collectés par les électrodes et entraîne une diminution du courant. L'intensité recueillie suit une loi exponentielle du type :

$$I = I_0 * e^{-EKC}$$

avec I : intensité du courant recueilli,  $I_0$  : intensité du courant en présence du seul gaz vecteur, E : coefficient de réponse de la substance considérée, K : facteur dépendant du détecteur et C : concentration de la substance considérée.

Ce détecteur, à l'inverse des autres, fournit donc une réponse négative vis-à-vis des substances présentant une affinité pour les électrons. Il est constitué d'une chambre dont les extrémités jouent le rôle d'électrodes (dont la différence de potentiel peut atteindre 100 Volts). La source radioactive est une feuille mince d'acier inoxydable sur laquelle est déposé du  $^{63}\text{Ni}$  pouvant résister à des températures de plus de 300°C. Il est extrêmement sensible et exige une très grande pureté des solvants servant à préparer et à introduire les extraits chromatographiques. Par nature, ce détecteur doit être alimenté avec un débit gazeux de 20 ml min<sup>-1</sup> pour donner une réponse correcte et augmenter sa sensibilité. Ce débit est atteint en mélangeant en sortie de

colonne un gaz identique à celui servant de phase mobile. Cette opération est désignée par le terme make-up.

Sa sensibilité est très grande et il est parfois possible de doser des concentrations de l'ordre du picogramme. Cependant, elle varie beaucoup entre les substances et augmente de l'iode au fluor ( $I < Br < Cl < F$ ).

#### *1.2.2.4.ii. Protocole de dosage*

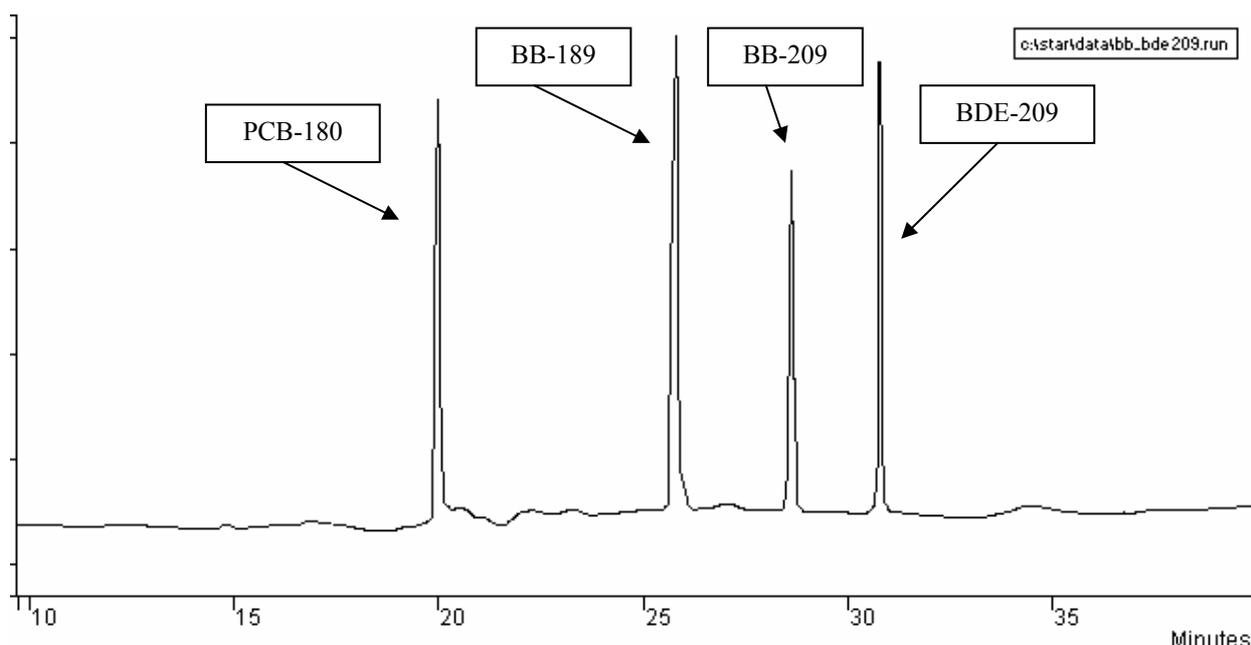
La GC-ECD a été employée pour quantifier le BB-189, le BB-209 et le BDE-209 qui ne pouvaient pas être détectés par GC-MS/MS. En effet, leur haut poids moléculaire était un frein à l'analyse par GC-MS qui ne peut fractionner que les molécules dont le rapport m/z est inférieur à 650. De plus, ces molécules sont très fragiles lorsqu'elles sont soumises à de fortes températures et donc leur dosage nécessite un programme d'analyse court.

Pour ce faire, le programme suivant a été élaboré à partir de la note d'application 59389B fournie par Restek Environmental :

La colonne utilisée était une Rtx®-500 (Restek) de 30 mètres de long, de 0,53 mm de diamètre interne et 0,15  $\mu\text{m}$  d'épaisseur de film avec de l'azote comme gaz vecteur. Les conditions chromatographiques sont les suivantes : volume d'injection : 1  $\mu\text{l}$  ; mode splitless ; température de l'injecteur : 380°C ; température du four programmée : 100°C (maintenue pendant 1 min) puis passage à 260°C (maintenue pendant 5 min) à raison de 15°C/min et augmentation à 380°C (maintenue pendant 15 min) à raison de 15°C/min soit un temps total de chromatographie de 40 min.

Un chromatogramme type est présenté sur la figure 24 :

Pour chaque série d'analyse, des courbes de calibration ont été réalisées pour chaque congénère avec cinq standards ayant des concentrations allant de 10 à 200  $\mu\text{g l}^{-1}$  (10, 25, 50, 100 et 200  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). Ces standards ont été préparés à partir de solutions pures de BB-189, de BB-209 (CHEMSERVICE INC) et de BDE-209 (WELLINGTON LABORATORIES INC).



**Figure 24:** Chromatogramme obtenu par GC-ECD.

### I.2.3. Vérification des techniques employées

#### I.2.3.1. Test de rendement

Les PBDE sont des molécules encore peu étudiées et, à l'heure actuelle, peu de matériaux de référence existent. Le WMF-01 (WELLINGTON LABORATORIES INC.) est un matériau de référence préparé à partir de filets de saumons âgés de 4-5 ans provenant du Lac Ontario et contaminés naturellement en PBDE (BDE-28, -47, -99, -100, -153 et -154). Ces filets sont fournis sous forme lyophilisée. Des tests de rendement ont été menés en faisant subir à ce matériau le même protocole que celui subi par les matrices biologiques étudiées ici. Deux réplicats de 5 g chacun ont été analysés et les résultats sont présentés dans le tableau XXI.

**Tableau XXI :** Concentrations certifiées de différents PBDE dans un matériau de référence certifié (WMF-01, Wellington Laboratories, en ng g<sup>-1</sup>, poids sec), concentrations obtenues au laboratoire et rendement obtenu pour chaque molécule.

MATERIAU		BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154
<b>WMF-01</b>	Valeur certifiée	3,124	123,2	37,5	35,87	17,04	19,79
<b>Réplicat 1</b>	Valeur LD2H	3,098	135,4	33,6	36,15	23,58	25,05
<b>Réplicat 2</b>	Valeur LD2H	3,466	98,54	41,1	32,00	24,55	19,38
<b>RENDEMENT</b>	<b>Min - Max</b>	<b>99 - 111</b>	<b>80 - 110</b>	<b>90-110</b>	<b>89 - 101</b>	<b>138 - 144</b>	<b>98 - 127</b>
(%)							

Les rendements obtenus sont très satisfaisants puisque dans la plupart des cas, l'écart ne dépasse pas 15%. Les congénères les plus bromés sont ceux possédant une gamme de rendement plus large et souvent supérieure à la valeur théorique. Dans la littérature, le pourcentage de rendement des différents PBDE est généralement supérieur à 80% (WHO, 1994b) et de précédentes études menées sur les BDE-47, -99 et -100 dans des muscles de poissons ont montré des rendements compris entre 111 à 114 % (Sellström *et al.*, 1998a). Comparés à ces résultats, les rendements obtenus ici sont donc tout à fait acceptables et nous permettent donc de valider la méthode élaborée.

### **I.2.3.2. Test interlaboratoire**

Dans l'optique de comparer les résultats obtenus avec notre méthode et ceux obtenus avec une méthode différente dans un laboratoire différent, une étude interlaboratoire a été menée avec le LABERCA (LABoratoire d'Etude des Résidus et des Contaminants dans les Aliments, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes), Laboratoire National de Référence (LNR) accrédité selon la norme ISO17025. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XXII.

Les résultats obtenus dans les deux laboratoires sont cohérents. Cependant, le LABERCA est équipé d'un chromatographe en phase gazeuse haute résolution couplé à un spectromètre de masse haute résolution permettant d'avoir des limites de quantification plus basses. C'est la raison pour laquelle certains congénères, notamment dans les échantillons d'anguilles, n'ont pu être détectés. Par la suite, pour les autres échantillons d'anguilles de Loire analysés, ce problème a été résolu en augmentant la quantité de la prise d'essai (la quantité de muscle dans l'anguille étant très importante).

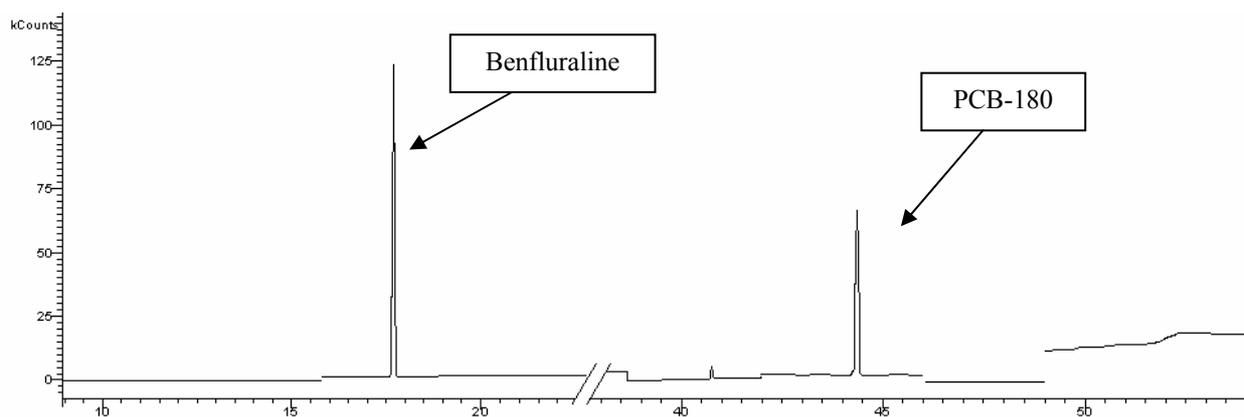
Les deux laboratoires donnent des résultats relativement similaires. La méthode employée peut donc être à nouveau validée.

**Tableau XXII :** Concentrations de différents congénères de PBDE analysés en parallèle avec le LABERCA dans des échantillons de muscles d'anguilles de Loire (AL1-3), de flets de Loire (FL1-3) et de flets de Seine (FS1-3).

ECHANTILLON	LABORATOIRE	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154
AL1	LABERCA	0,02	0,96	0,13	0,12	0,04	0,05
	LD2H	<2	<2	<2	<2	<2	<2
AL2	LABERCA	0,08	1,82	0,22	0,25	0,04	0,05
	LD2H	<2	2,27	<2	<2	<2	<2
AL3	LABERCA	0,05	2,72	0,62	0,17	0,18	0,05
	LD2H	<2	2,60	<2	<2	<2	<2
FL1	LABERCA	1,01	50,58	5,01	4,42	0,85	2,55
	LD2H	<2	44,72	6,58	5,25	<2	2,58
FL2	LABERCA	0,61	19,60	3,23	2,83	0,55	1,80
	LD2H	<2	17,93	2,56	2,69	<2	<2
FL3	LABERCA	0,76	25,26	4,61	3,70	0,68	2,11
	LD2H	<2	31,68	3,51	3,41	<2	<2
FS1	LABERCA	5,55	184,78	4,37	52,80	1,47	25,43
	LD2H	5,15	145,39	4,35	57,25	<2	20,26
FS2	LABERCA	26,07	799,47	7,24	121,38	11,94	96,96
	LD2H	26,26	623,77	6,69	120,32	9,32	93,43
FS3	LABERCA	2,86	103,77	4,72	23,74	2,39	11,94
	LD2H	2,13	109,68	4,20	28,21	2,36	10,47

### I.2.3.3. Test de blanc

Des tests de blancs analytiques ont été réalisés pendant chaque série d'analyse afin de vérifier que le matériel et les produits utilisés ne relarguaient pas les composés recherchés. Les solvants subissaient les mêmes protocoles d'extraction (micro-onde ou Soxhlet accéléré), de purification (sur colonne de Florisil, de SA-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et AloxN) et de dosage que les échantillons mais en absence de matrice. Les résultats obtenus pour chaque série d'analyse n'ont jamais montré de contaminations dues au matériel ou aux produits employés. Un exemple de chromatogramme obtenu pour un blanc est représenté sur la figure 25.



**Figure 25 :** Chromatogramme obtenu lors du passage d'un blanc analytique en GC-MS/MS.

L'ensemble des tests préliminaires réalisés suivant la méthode développée a permis de la valider. Les échantillons de l'étude ont donc été préparés et analysés suivant les méthodes mises au point.

#### **I.2.3.4. Tests de contrôle qualité**

Durant chaque série d'analyse, une solution standard de  $200 \mu\text{g l}^{-1}$ , différente du standard le plus concentré utilisé pour faire les courbes de calibration, a été analysée tous les 10 échantillons afin de s'assurer de la reproductibilité de la mesure.

#### **I.2.3.5. Test de répétabilité de la mesure**

Une étude sur la répétabilité de la mesure du BDE-47 a été réalisée sur quatre pools appariés de crevettes collectées en Loire. Les concentrations de BDE-47 mesurées variaient assez peu entre les pools d'individus collectés aux mêmes sites et aux mêmes moments étant donné les faibles coefficients de variation obtenus (tableau XXIII).

**Tableau XXIII :** Etude de répétabilité de la mesure du BDE-47 dans des échantillons poolés de crevettes (n=2).

Espèces de crevettes	Date d'échantillonnage	Concentration de BDE-47 moyenne $\text{ng.g}^{-1}$ , pf	Ecart-type	Coefficient de variation (%)
<i>Crangon crangon</i>	June 2003	0.13	0.002	1.9
	August 2003	0.13	0.006	4.8
<i>Palaemon elegans</i>	June 2003	0.12	0.005	4.1
	August 2003	0.22	0.018	8.2

La répétabilité de la mesure peut donc être considérée comme bonne.

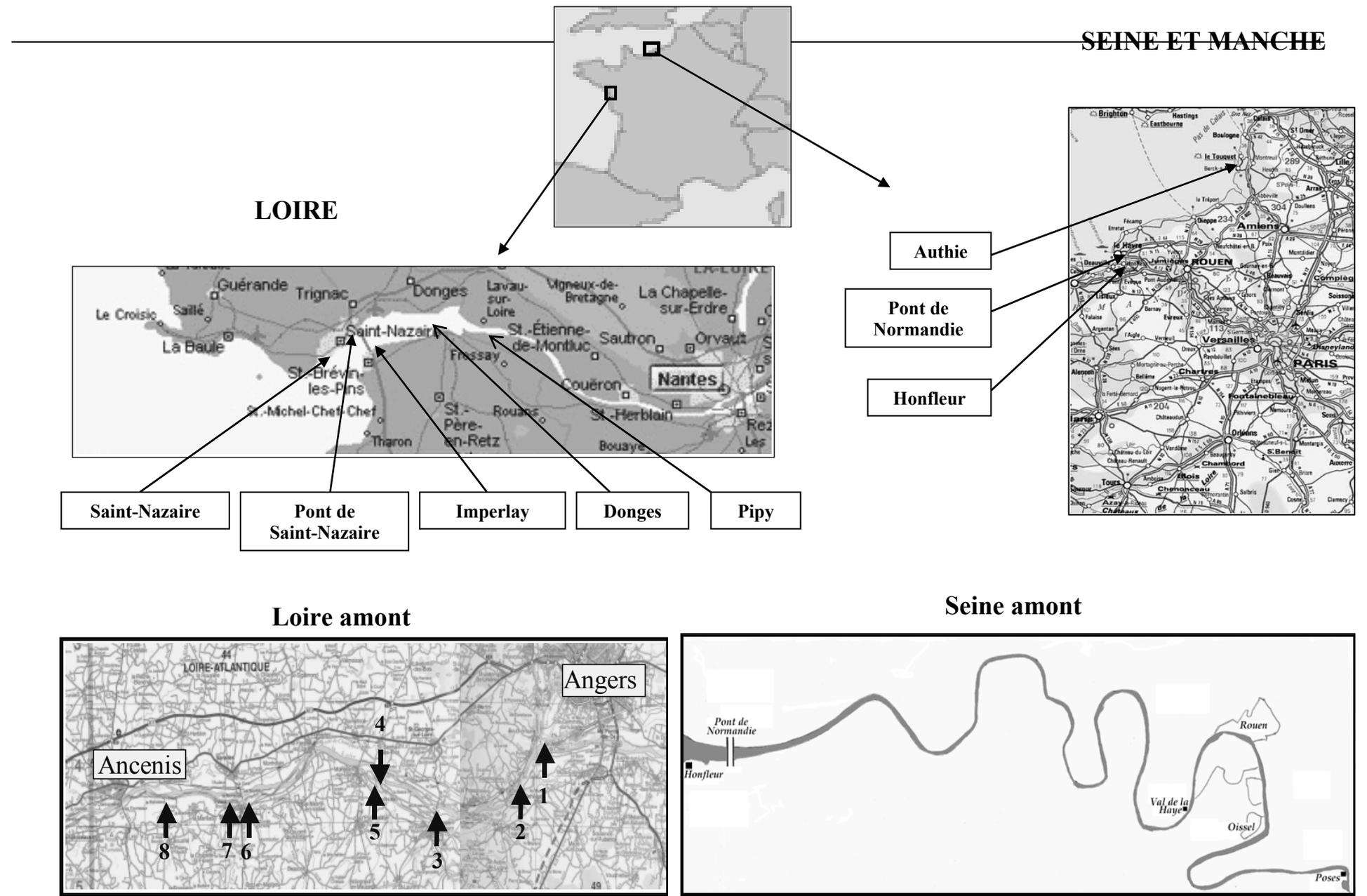
### **I.3. Stratégie d'échantillonnage**

#### **I.3.1. Lieux de prélèvements**

Différentes campagnes ont été menées afin d'obtenir un échantillonnage varié permettant d'obtenir différentes espèces représentant des niveaux trophiques différents. Trois zones de prélèvements ont été retenues : l'estuaire de la Loire, l'estuaire de la Seine et la Baie de l'Authie (figure 25) :

- Dans l'estuaire de la Loire, les prélèvements ont été réalisés :
  - Sur des vasières intertidales : Prélèvements trimestriels sur un cycle annuel au nord, près du chenal de navigation, sous le pont de Saint-Nazaire (*site Saint-Nazaire*) et au sud, à la pointe de l'Imperlay (*site Imperlay*).
  - Dans le fleuve Loire : prélèvements principalement en période estivale où la richesse biologique est la plus grande (d'après les travaux de Marchand *et al.*, 1977) en face de l'usine pétrochimique de Donges (près de l'embouchure, *site Donges*), au niveau de l'île Pipy (en amont de l'estuaire, *site Pipy*) et à la sortie de Saint-Nazaire.
  - En amont de l'estuaire entre Angers et Ancenis.
- Dans l'estuaire de la Seine, l'échantillonnage a été moins systématique :
  - Sur des vasières intertidales : au nord, près du Pont de Normandie (*site Pont de Normandie*) et au sud, près de Honfleur (*site Honfleur*).
  - Dans l'estuaire et à la sortie de l'estuaire à Fosse Sud.
  - En amont de l'estuaire : Val de la Haye, Poses, Rouen, Oissel.
- Dans l'estuaire de l'Authie, sur une vasière intertidale (*site Authie*).

Sur tous ces sites, les échantillons présents occasionnellement en quantité suffisante pour l'analyse ont été collectés.



**Figure 26 :** Cartes représentant les différents sites d'étude.

### I.3.2. Echantillonnage

Les techniques, les lieux et les dates d'échantillonnage ont été rassemblés dans le tableau XXIV.

**Tableau XXIV :** Tableau récapitulatif des lieux, dates et modes de prélèvement des sédiments et des organismes.

Niveau trophique	Nature du prélèvement	Estuaire	Site	Date	Mode de prélèvement
Sédiment		LOIRE	Saint-Nazaire	avril 2003 juillet 2003	Manuel
			Imperlay	septembre 2003 novembre 2003	
		SEINE	Honfleur	juillet 2002 septembre 2002	
			Pont de Normandie	février 2003 mai 2003	
AUTHIE	Authie	juillet 2002 septembre 2002 février 2003 mai 2003			
<b>Producteur primaire</b>	<i>Algue Fucus ceranoïdes</i>	LOIRE	Saint-Nazaire	novembre 2003	Manuel
<b>Consommateurs primaires</b>	Zooplancton	LOIRE	Donges Pipy	octobre 2003	Filet à plancton de 200µm
	Bivalves :	LOIRE	Saint-Nazaire	avril 2003 juillet 2003	Manuel
			Imperlay	septembre 2003 novembre 2003	
	<i>Scrobicularia plana</i>	SEINE	Honfleur	juillet 2002 septembre 2002	
			Pont de Normandie	février 2003 mai 2003 août 2003	
		AUTHIE	Authie	septembre 2002 février 2003	
	<i>Mya arenaria</i>	SEINE	Honfleur	février 2003 mai 2003 août 2003	
	<i>Macoma balthica</i>	SEINE	Honfleur	septembre 2002 mai 2003	
	<i>Cerastoderma edule</i>	SEINE	Honfleur	mai 2003	
	<i>Mytilus edulis</i>	SEINE	Honfleur	février 2003 mai 2003 août 2003	

Tableau XXIV (suite)

Niveau trophique	Nature du prélèvement	Estuaire	Site	Date	Mode de prélèvement	
Omnivores	<i>Nereis diversicolor</i>	LOIRE	Saint-Nazaire	avril 2003 juillet 2003	Manuel	
			Imperlay	septembre 2003 novembre 2003		
		SEINE	Honfleur	juillet 2002 septembre 2002		
			Pont de Normandie	mai 2003 juillet 2003		
		AUTHIE	Authie	juillet 2002 septembre 2002		
	<i>Crangon crangon</i>	LOIRE	Donges Pipy	juin 2003 août 2003	Chalut à perches	
	<i>Palaemon elegans</i>	LOIRE	Donges Pipy	juin 2003 août 2003		
		SEINE	Estuaire	novembre 2003		
	<i>Palaemon serratus</i>	LOIRE	Donges	juin 2003 août 2003		
			Pipy	août 2003		
	<i>Solea solea</i>	LOIRE	Donges	avril 2003 juin 2003		
			Pipy	avril 2003 juin 2003 août 2003		
	<i>Platichthys flesus</i>	LOIRE	Aval Loire	novembre 2002		
			Donges	juin 2003		
			Pipy	avril 2003 juin 2003 août 2003		
		Saint-Nazaire	février 2004			
SEINE		Estuaire Fosse Sud	avril 2002 février 2004			
Nécrophage	<i>Carcinus maenas</i>	LOIRE	Pipy	août 2003 octobre 2003		Chalut à perches
Super Carnivore	<i>Anguilla anguilla</i>	LOIRE	Aval Loire Angers - Ancenis Angers - Ancenis	novembre 2002 janvier 2002 février 2003		Pêche au guideau
		SEINE	Val de la Haye	septembre 2003		
			Poses Rouen Oissel			

Le sédiment superficiel (profondeur inférieure à 1cm) a été prélevé à marée basse et placé dans des coupelles en aluminium fermées par des feuilles d'aluminium. Les échantillons ont été congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$  dès leur arrivée au laboratoire. Les annélides polychètes (*Nereis diversicolor*) et les bivalves (*Scrobicularia plana*, *Mya arenaria*, *Macoma balthica* et *Cerastoderma edule*) ont été collectés dans les vasières, à la main. Les moules (*Mytilus edulis*) ont été prélevées directement sur une jetée submersible. Les polychètes et les bivalves ont été mis à dépurer pendant 24 heures afin d'éliminer leurs contenus stomacaux. Les bivalves ont ensuite été décoquillés. Tous les échantillons ont été placés dans des coupelles en aluminium puis ont été congelés en attendant la suite des analyses. Les algues (*Fucus ceranoïdes*) ont été prélevées à la main, placées dans des feuilles d'aluminium et congelées à leur arrivée au laboratoire. Les prélèvements de zooplancton ont été réalisés à l'aide d'un filet à plancton de  $200\mu\text{m}$  de maille traîné pendant 5 minutes à trois reprises sur chaque site.

Des campagnes d'échantillonnage ont été menées afin de collecter trois espèces de crevettes (des crevettes grises : *Crangon crangon*, des crevettes blanches : *Palaemon elegans* et des crevettes roses : *Palaemon serratus*), une espèce de crabe (crabe vert : *Carcinus maenas*) et deux espèces de poissons plats (des flets : *Platichthys flesus* et des soles : *Solea solea*). Les captures ont été réalisées à l'aide d'un filet à perche en réalisant deux traits de 5 minutes sur chaque site (Figure 27). Les échantillons ont été placés dans des feuilles d'aluminium pendant leur transport et leur stockage. Une fois au laboratoire, les muscles de tous les poissons ainsi que leurs foies ont été disséqués et les carapaces des crabes ont été ôtées. Les crevettes ont été conservées entières. Tous les échantillons ainsi préparés ont ensuite été congelés avant analyse.

Les anguilles (*Anguilla anguilla*) ont été capturées à l'aide de filets de 8m de large et de 25m de long appelés guideau (figure 28). Il faut noter qu'une partie des anguilles de Loire a été capturée dans le cadre du « Tableau de bord anguille ». Ce programme engagé en 2002 constitue un dispositif d'acquisition régulier et objectif des caractéristiques des stocks locaux d'anguilles européenne et des habitats disponibles, par élaboration d'indicateurs d'état permettant de fixer des niveaux d'alerte et d'évaluer les impacts des mesures de gestion environnementale à réaliser. Ceci nous a permis d'obtenir des prélèvements en Loire en 2002 et 2003. A leur arrivée au laboratoire, les muscles et les foies ont été disséqués et congelés avant analyse.



**Figure 27 :** Remontée du filet à perche



**Figure 28:** la pêche au guideau

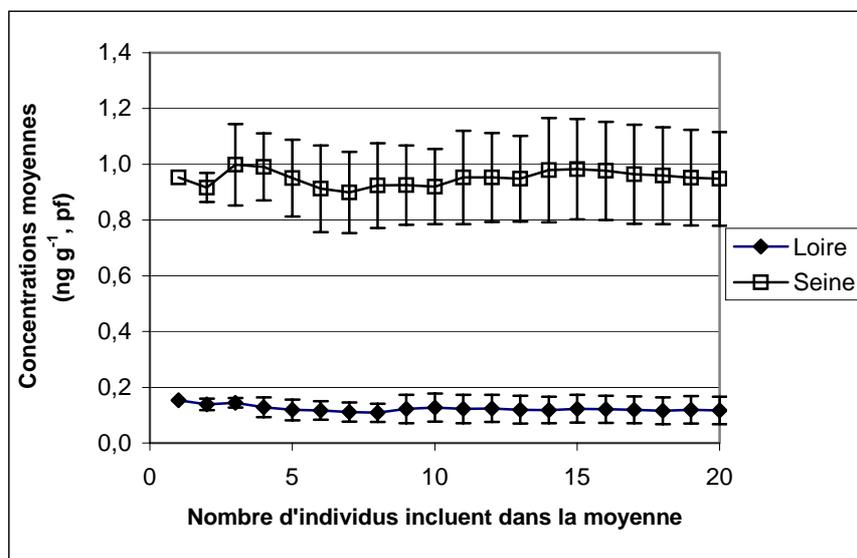
Les échantillons ont ensuite été lyophilisés, extraits, purifiés et analysés selon les méthodes décrites précédemment.

Deux répliquats ont été réalisés pour chaque échantillon de sédiment ainsi que pour les algues. Le zooplancton, les polychètes (pools d'au moins 100 individus par site et date de prélèvement), les bivalves (pools d'au moins 100 individus par site et date de prélèvement) et les crevettes (pools d'au moins 50 individus par site et date de prélèvement) n'ont pu être analysés qu'une seule fois compte tenu des faibles quantités d'échantillons. Les corps mous entiers des deux crabes ont été analysés individuellement. Les muscles de soles, de flets et d'anguilles ont été traités individuellement en analysant au moins trois individus par site et date de prélèvement. Les foies des poissons ont été rassemblés en pools de trois pour les poissons plats et de deux pour les anguilles afin d'obtenir une quantité d'échantillon assez importante.

### **I.3.3. Représentativité du nombre d'échantillons de poissons analysés**

Pour les poissons, une expérience a été menée afin d'établir le nombre minimum d'individus à analyser pour obtenir une concentration moyenne de PBDE représentative de la moyenne globale de la population. Les concentrations individuelles de PBDE ont été

aléatoirement extraites pour obtenir des groupes de 2 à 20 individus dans les populations de flets collectés dans les estuaires de Loire et de Seine en février 2004. Les moyennes et les écart-types ont été calculés au fur et à mesure que la taille des groupes augmentait (figure 29).



**Figure 29 :** Variabilité des concentrations de PBDE dans les muscles de flets. Les moyennes et les écart-types ont été calculés pour un nombre croissant d'individus (2 à 20).

Les concentrations moyennes étaient remarquablement stables quelque soit la taille des groupes. Les concentrations moyennes obtenues avec trois individus sur les deux sites ne différaient pas significativement (à 99 %) de la moyenne calculée pour l'échantillon entier (n = 20). Ceci indique donc que les concentrations de PBDE mesurées dans trois échantillons de poisson reflètent bien les concentrations de PBDE de la population entière.

#### **I.4. Analyses statistiques**

Des tests t de Student ont été utilisés pour faire la comparaison des moyennes après avoir vérifié la normalité des échantillons. Des tests t appariés ont permis de comparer les sites de prélèvement à l'intérieur de chaque estuaire (Loire et Seine) afin d'éliminer de possibles effets saisonniers. Des tests t non appariés ont été utilisés pour comparer les sites de prélèvements entre estuaires car les prélèvements n'y étaient pas concomitants.

Les significativités des corrélations des droites de régression ont été déterminées par la méthode des moindres carrés.

La modélisation mathématique a été déterminée en réalisant une transformation logarithmique avec la méthode des moindres carrés.

Des Analyses en Composantes Principales (ACP) ont permis d'étudier les résultats obtenus dans l'étude de comparaison des géotypes de flets avec leurs concentrations en contaminants.

Toutes ces analyses ont été réalisées à l'aide des logiciels Statgraphics® et Excel.

# **III**

## **Triazines, PBB et PBDE en milieu estuarien**

**Remarque :**

*Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus dans la présente étude avec les données de la littérature, toutes les concentrations dans les sédiments ont été calculées en fonction du poids sec (ps) et du poids frais (pf) et toutes les concentrations dans le biota ont été calculées en fonction du poids de lipides (pl), du poids sec (ps) et du poids frais (pf). Pour se faire, les échantillons ont été pesés frais et après lyophilisation et le poids des lipides obtenus après extraction a été mesuré. Ceci explique que, dans ce manuscrit, les résultats sont tantôt exprimés en poids frais, tantôt en poids sec et tantôt en poids de lipides.*

Les triazines étant régulièrement retrouvées dans les analyses d'eau dans la France entière, il était intéressant d'évaluer leur capacité de transfert aux organismes vivants. Au début de cette étude, les PBB et les PBDE étaient encore peu connus en France. Seule une publication faisait état de la contamination des sédiments de Seine par ces deux familles de polluants. De nombreux pays à travers le monde s'étaient déjà penchés sur le problème de la contamination de l'environnement par les retardateurs de flamme bromés et avaient même mis en évidence leur présence chez les hommes. Leur toxicité était de plus en plus suspectée et commençait à inquiéter les pouvoirs publics. Le premier objectif de ce travail était donc d'établir l'état de contamination de deux des principaux estuaires français, la Loire et la Seine en comparaison avec un estuaire peu anthropisé, l'estuaire de l'Authie.

Dans un deuxième temps, nous avons cherché à connaître la capacité de transfert de ces contaminants depuis le sédiment vers les espèces vivant au contact du sédiment, leur capacité de bioaccumulation dans les organismes et les facteurs pouvant influencer cette bioaccumulation. Ceci nous a également conduit à évaluer leur potentiel de biomagnification dans les chaînes alimentaires estuariennes et à tenter de représenter cette biomagnification à l'aide de modélisations.

Enfin, les effets toxiques des PBDE sur les organismes étant aussi à prendre en compte, une étude a été réalisée afin d'évaluer l'impact de la contamination de l'environnement aquatique en polluants organiques sur les profils génotypiques de populations de flets issues des estuaires de Loire et de Seine. Le but était d'évaluer la capacité de ces contaminants à perturber le matériel génétique de flets afin de les rendre plus résistants à certaines contaminations chroniques.

## **I.1. Présence de triazines et de PBB dans les estuaires étudiés**

### **I.1.1. Présence des triazines dans les échantillons analysés**

Malgré la détection régulière d'atrazine, de simazine et d'atrazine déséthyle dans les eaux à des niveaux supérieurs à la limite de potabilité (0,10 ng l<sup>-1</sup>) (IFEN, 2002), les triazines n'ont été détectées qu'à de rares exceptions dans les sédiments à des niveaux supérieurs à la limite de quantification (0,05 ng g<sup>-1</sup>, ps) et jamais dans les 171 échantillons biologiques analysés (tableau XXV).

**Tableau XXV :** Concentrations en triazines obtenues dans les sédiments des différents sites (ng g<sup>-1</sup>, ps).

Site	Date de prélèvement	Atrazine (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Atrazine déséthyle (ng g <sup>-1</sup> , ps)	Simazine (ng g <sup>-1</sup> , ps)
<b>Pont de Saint-Nazaire</b>	Avril 2003	<0,05	<b>12,74 (1,02)</b>	<0,05
	Juillet 2003	<0,05	<0,05	<0,05
	Septembre 2003	<0,05	<b>8,7 (0,9)</b>	<0,05
	Novembre 2003	<0,05	<b>9,8 (1,4)</b>	<0,05
<b>Imperlay</b>	Avril 2003	<b>0,43 (0,05)</b>	<0,05	<0,05
	Juillet 2003	<0,05	<0,05	<0,05
	Septembre 2003	<0,05	<0,05	<0,05
	Novembre 2003	<b>0,08 (0,02)</b>	<0,05	<0,05
<b>Honfleur</b>	Juillet 2002	<0,05	<0,05	<0,05
	Septembre 2002	<b>0,51 (0,1)</b>	<0,05	<0,05
	Février 2003	<0,05	<0,05	<0,05
	Mai 2003	<0,05	<b>10,8 (0,03)</b>	<0,05
<b>Pont de Normandie</b>	Juillet 2002	<b>0,11 (0,54)</b>	<0,05	<b>0,25 (0,4)</b>
	Septembre 2002	<b>1,15 (0,48)</b>	<0,05	<0,05
	Février 2003	<b>1,4 (0,02)</b>	<0,05	<0,05
	Mai 2003	<0,05	<0,05	<0,05
<b>Authie</b>	Juillet 2002	<0,05	<0,05	<0,05
	Septembre 2002	<0,05	<0,05	<0,05
	Février 2003	<0,05	<0,05	<0,05
	Mai 2003	<0,05	<b>18 (1,8)</b>	<0,05

### **I.1.2. Les PBB dans les échantillons analysés**

Les PBB recherchés ont été détectés dans aucun des échantillons de sédiments et de biota.

## **I.2. Contamination des sédiments et des invertébrés endogés par les**

### **PBDE**

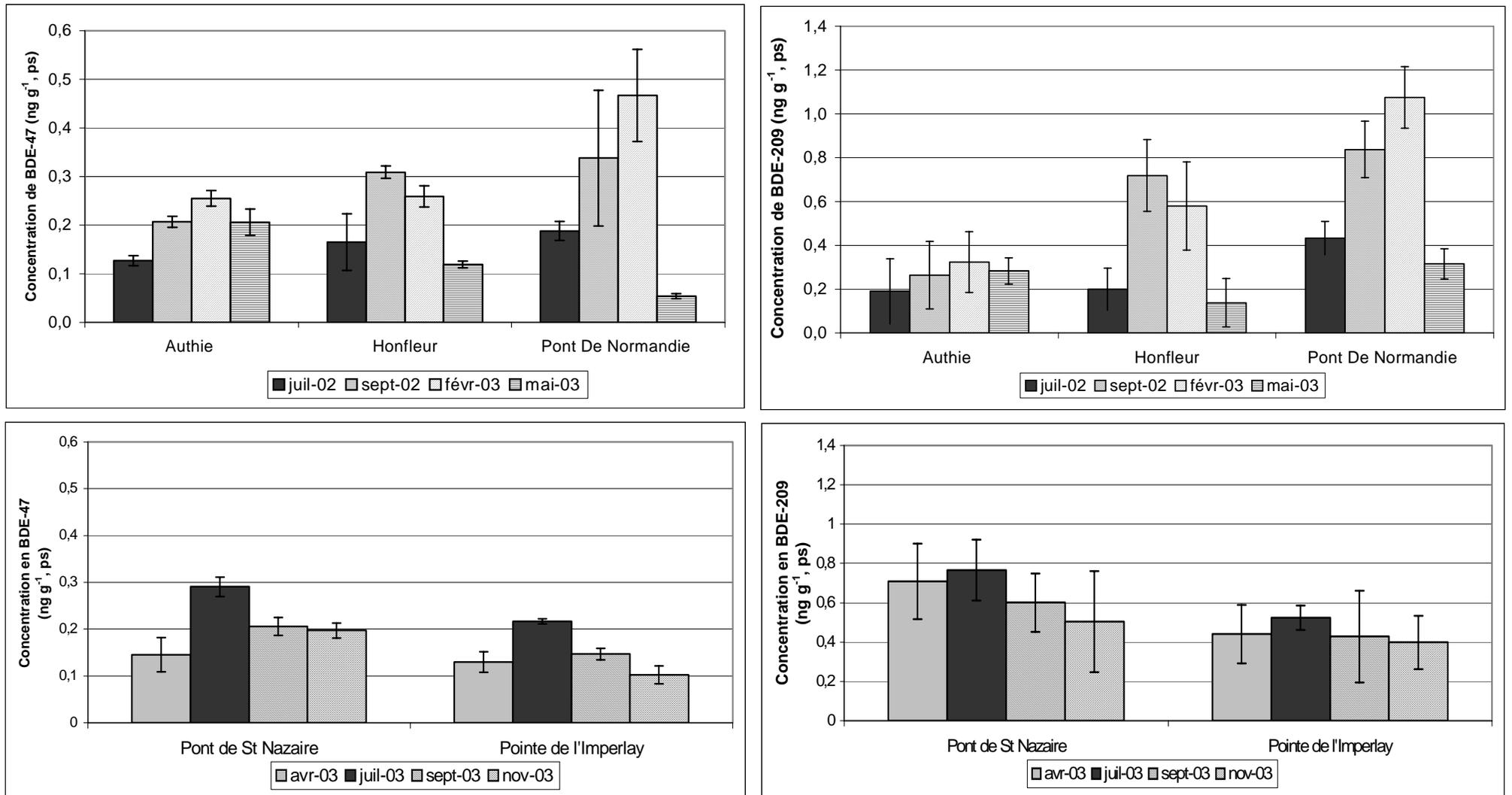
Des PBDE ont été détectés dans tous les échantillons analysés. Le BDE-209 a été détecté dans tous les sédiments mais dans aucun des 171 échantillons de biota (limite de quantification :  $2 \text{ ng g}^{-1}$ , poids de lipides).

#### **I.2.1. Sédiments**

Les concentrations de BDE-47 et BDE-209 ont été détaillées dans la figure 30.

Ces molécules sont les seuls congénères qui ont été trouvés dans tous les sédiments de tous les sites d'étude. Le BDE-209 était le congénère majeur avec des concentrations comprises entre  $0,190$  et  $0,323 \text{ ng g}^{-1}$ , ps dans l'estuaire de l'Authie, entre  $0,138$  et  $1,075 \text{ ng g}^{-1}$ , ps dans l'estuaire de la Seine et entre  $0,398$  et  $0,766 \text{ ng g}^{-1}$ , ps dans l'estuaire de la Loire. Le BDE-47 était présent à de plus faibles concentrations dans les sédiments des estuaires de Seine et de Loire : entre  $0,054$  et  $0,467 \text{ ng g}^{-1}$ , ps dans ceux de l'estuaire de la Seine et entre  $0,102$  et  $0,291 \text{ ng g}^{-1}$ , ps dans les sédiments de l'estuaire de la Loire et à des concentrations équivalentes dans l'estuaire de l'Authie : entre  $0,126$  et  $0,255 \text{ ng g}^{-1}$ , ps.

Le BDE-100 n'était détectable qu'occasionnellement dans les sédiments du Pont de Normandie ( $0,118 \text{ ng g}^{-1}$ , ps en juillet 2002 et  $0,479 \text{ ng g}^{-1}$ , ps en février 2003). Le BDE-154 n'a été détecté que deux fois dans l'estuaire de la Seine en juillet 2002 à  $0,201 \text{ ng g}^{-1}$ , ps à Honfleur et à  $0,137 \text{ ng g}^{-1}$ , ps au Pont de Normandie. Les BDE-28, -99 et -153 étaient toujours en dessous de la limite de quantification de  $0,05 \text{ ng g}^{-1}$ , ps.



**Figure 30 :** Variations temporelles et spatiales des concentrations en BDE-47 et en BDE-209 (ng g<sup>-1</sup>, ps) dans les sédiments estuariens.

En moyenne sur l'ensemble des prélèvements, les concentrations les plus élevées en BDE-47 ont été observées dans les sédiments du Pont de Saint-Nazaire en Loire et du Pont de Normandie en Seine mais les concentrations n'étaient pas significativement différentes du site témoin (la Baie de l'Authie). Par contre, en comparaison avec le site témoin, des concentrations significativement plus importantes de BDE-209 ont été observées dans tous les sédiments estuariens sauf dans les sédiments de Honfleur prélevés en juillet 2002 et en septembre et mai 2003 (test t non apparié,  $\alpha=0,05$ ). Dans l'estuaire de la Loire, les concentrations de BDE-47 et BDE-209 présentes dans les sédiments de la vasière Nord (Pont de Saint-Nazaire) étaient significativement supérieures à celles de la vasière sud (Imperlay) (test t apparié,  $\alpha=0,05$ ). De façon similaire, les sédiments de Honfleur semblaient moins contaminés que ceux du Pont de Normandie (proche d'une zone fortement industrialisée et urbanisée). Cependant, la différence entre ces deux sites n'était significative que pour le BDE-209.

## **I.2.2. Bivalves et polychètes intrasédimentaires**

### **I.2.2.1. Bivalves**

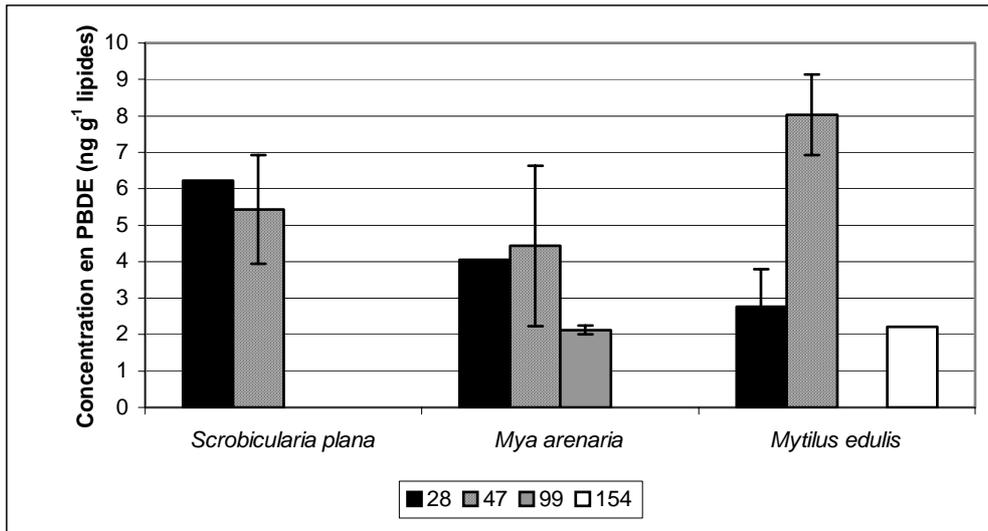
Tous les bivalves étudiés contenaient des PBDE quel que soit leur site d'origine (tableau XXVI).

Le BDE-47 a été détecté dans tous les échantillons analysés. Le BDE-28, présent uniquement dans un échantillon de *Scrobicularia plana*, était le seul congénère différent du BDE-47 dans les échantillons. Il a également été détecté dans un échantillon de *Mya arenaria* provenant du site d'Honfleur alors qu'il était présent dans tous les échantillons de moules (*Mytilus edulis*), à toutes les dates (figure 31). Le BDE-99 était détectable seulement dans les mûres collectées au printemps et en été alors que le BDE-154 n'était observé que dans les moules au printemps (figure 31).

Des différences d'accumulation du BDE-47 entre les espèces ont été observées. En effet, les concentrations de BDE-47 dans les moules étaient significativement supérieures à celles des autres bivalves (test t non apparié,  $\alpha=0,05$ ) (figure 31).

**Tableau XXVI :** Concentrations en PBDE dans les bivalves (*Scrobicularia plana*, *Mya arenaria*, *Macoma balthica*, *Mytilus edulis* et *Cerastoderma edule*) (ng g<sup>-1</sup> poids de lipides (pl)). Les autres congénères avaient des concentrations inférieures à 2 ng g<sup>-1</sup> lipides.

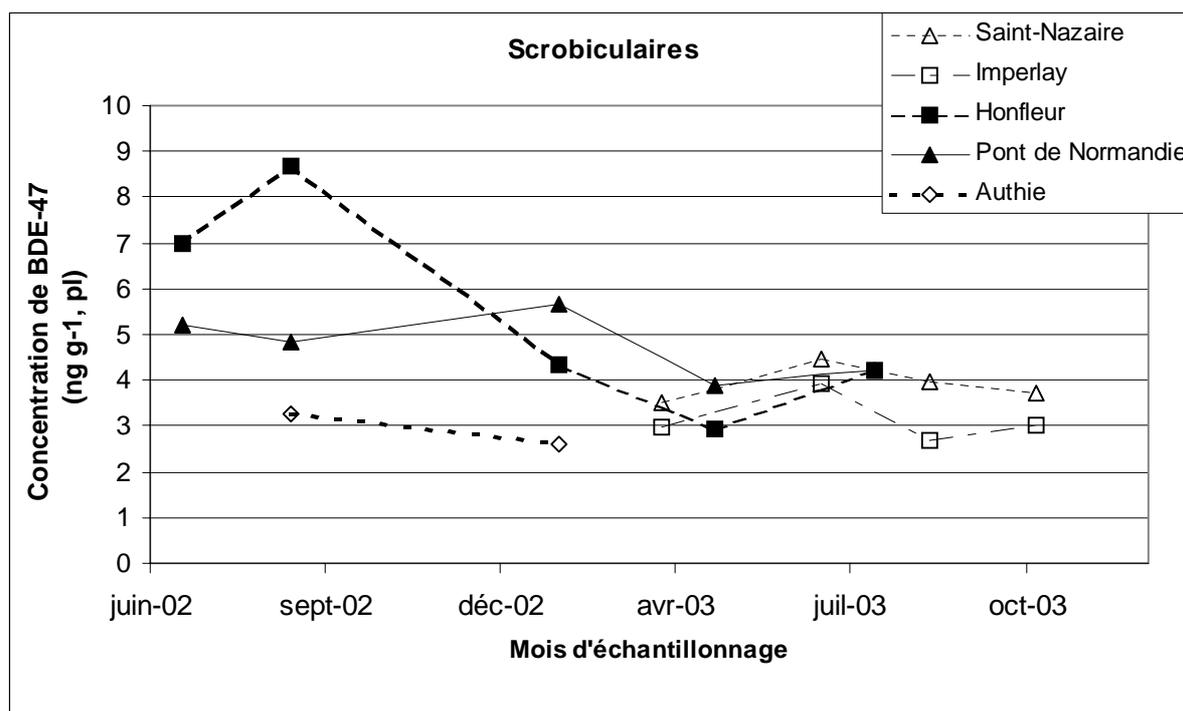
Espèces	Site	Date de prélèvement	BDE-28 (ng g <sup>-1</sup> , pl)	BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , pl)	BDE-99 (ng g <sup>-1</sup> , pl)	BDE-154 (ng g <sup>-1</sup> , pl)	
<i>Scrobicularia plana</i>	Saint-Nazaire	Avril 2003	<2	3,5	<2	<2	
		Juillet 2003	<2	4,5	<2	<2	
		Septembre 2003	<2	3,9	<2	<2	
		Novembre 2003	<2	3,7	<2	<2	
	Imperlay	Avril 2003	<2	3,0	<2	<2	
		Juillet 2003	<2	3,9	<2	<2	
		Septembre 2003	<2	2,7	<2	<2	
		Novembre 2003	<2	3,0	<2	<2	
	Honfleur	Pont de Normandie	Juillet 2002	<2	7,0	<2	<2
			Septembre 2002	6,2	8,7	<2	<2
		Authie	Février 2003	<2	4,3	<2	<2
			Mai 2003	<2	2,9	<2	<2
			Août 2003	<2	4,2	<2	<2
			Juillet 2002	<2	5,2	<2	<2
			Septembre 2002	<2	4,8	<2	<2
			Février 2003	<2	5,6	<2	<2
		Honfleur	Mai 2003	<2	3,9	<2	<2
			Août 2003	<2	4,2	<2	<2
Septembre 2002	<2		3,3	<2	<2		
Honfleur	Février 2003	<2	2,6	<2	<2		
	Février 2003	<2	3,2	<2	<2		
	Mai 2003	<2	3,1	2,2	<2		
Honfleur	Août 2003	4,0	7,0	2,0	<2		
	Septembre 2002	<2	6,4	<2	<2		
	Mai 2003	<2	4,1	<2	<2		
Honfleur	Février 2003	2,1	9,2	<2	<2		
	Mai 2003	3,9	7,9	<2	2,2		
	Août 2003	2,2	7,0	<2	<2		
Honfleur	Mai 2003	<2	4,0	<2	<2		



**Figure 31 :** Concentrations de PBDE (ng g<sup>-1</sup> lipide) dans les bivalves de Honfleur. BDE-47: moyennes calculées avec les données des 5 prélèvements réalisés entre juillet 2002 et août 2003 pour les scrobiculaires et des 3 prélèvements réalisés entre février 2003 et août 2003 pour les autres bivalves. Pour les autres congénères, les moyennes ont été calculées en prenant en compte les 3 valeurs détectées pour le BDE-28 et les deux valeurs détectées pour le BDE-99.

Les concentrations de BDE-47 dans les scrobiculaires des deux sites de l'estuaire de la Seine (Honfleur et Pont de Normandie) n'étaient pas significativement différentes, tout comme les concentrations observées dans les deux sites de l'estuaire de la Loire (Pont de Saint-Nazaire et Imperlay). D'un autre côté, la concentration moyenne en BDE-47 observée chez les scrobiculaires de Seine était supérieure à la valeur moyenne observée dans les scrobiculaires de Loire, cette dernière étant au même niveau que les concentrations observées dans le site témoin (Authie). Les comparaisons intersites ont montré qu'il n'existait pas de différences significatives entre les deux sites de l'estuaire de Seine alors que la différence était significative entre les deux sites de l'estuaire de la Loire.

Dans le cas des scrobiculaires *S. plana* (figure 32), les différences temporelles ne semblent pas être gouvernées par un effet saisonnier. La plus forte variation était la variation inter annuelle observée à Honfleur. Les individus de Loire ont, comme dans le cas des sédiments, de plus fortes concentrations de BDE-47 en juillet 2003.



**Figure 32 :** Evolution de la concentration en BDE-47 (ng g<sup>-1</sup>, pl) en fonction des mois dans les scrobiculaires de différents sites.

L'absence du BDE-99 sauf dans *Mya arenaria* peut être expliquée par le fait que ce congénère est peu présent dans l'environnement comme le suggère son absence à des niveaux détectables dans les sédiments. L'absorption de BDE-47 et BDE-99 par la moule *Mytilus edulis* semble identique mais la vitesse de dépuración du BDE-99 est plus importante (Gustafsson *et al.*, 1999). Ceci pourrait expliquer le fait que le BDE-99 soit toujours en dessous de la limite de quantification dans les moules de l'estuaire de Seine.

#### **I.2.2.2. Polychètes**

Le BDE-47 était le congénère majoritaire détecté dans tous les échantillons (tableau XXVII). Les BDE-28 et -99 n'étaient présents qu'occasionnellement dans trois sites : Honfleur, Pont de Normandie et Pont de Saint-Nazaire.

Les concentrations annuelles moyennes étaient significativement supérieures dans les polychètes de Seine que dans les polychètes de Loire et les individus d'Authie avaient des concentrations intermédiaires (test t non apparié,  $\alpha=0,01$ ). Le test-t apparié ( $\alpha=0,01$ ) réalisé sur les échantillons des vasières nord et sud de l'estuaire de la Loire a révélé l'existence d'une différence significative entre ces deux sites. Les polychètes collectés sur la vasière nord étaient plus contaminés que ceux collectés sur la vasière sud.

**Tableau XXVII :** Concentrations en PBDE dans les polychètes (*Nereis diversicolor*) (ng g<sup>-1</sup> poids de lipides). Les autres congénères avaient des concentrations inférieures à 2 ng g<sup>-1</sup> lipides.

Site	Date de prélèvement	BDE-28 (ng g <sup>-1</sup> , pl)	BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , pl)	BDE-99 (ng g <sup>-1</sup> , pl)
Authie	Juillet 2002	<2	8.0	<2
	Septembre 2002	<2	6.2	<2
Honfleur	Juillet 2002	<2	9.7	<2
	Septembre 2002	<2	10.5	2.1
	Mai 2003	2.3	8.8	2.2
Pont de Normandie	Juillet 2002	2.1	9.0	<2
	Avril 2003	<2	4.5	<2
Pont de Saint-Nazaire	Juillet 2003	3.6	6.2	2.3
	Septembre 2003	<2	5.2	<2
	Novembre 2003	<2	5.0	<2
	Avril 2003	<2	3.3	<2
Imperlay	Juillet 2003	<2	5.4	<2
	Septembre 2003	<2	4.0	<2
	Novembre 2003	<2	4.2	<2

### I.2.3. Relation sédiment/organisme

Le tableau XXVIII montre les relations entre les concentrations en BDE-47 dans les sédiments et les concentrations en BDE-47 dans les polychètes intrasédimentaires (*Nereis diversicolor*) et les scrobiculaires (*Scrobicularia plana*) dans les deux sites anthropisés (Loire et Seine).

**Tableau XXVIII :** Relations entre les concentrations en BDE-47 dans les sédiments et les concentrations en BDE-47 dans les polychètes (*Nereis diversicolor*) et les scrobiculaires (*Scrobicularia plana*). a : pente, b : ordonnée à l'origine, R<sup>2</sup> : coefficient de détermination coefficient. - : La corrélation n'est pas significative, + : La corrélation est significative à 95%, ++ : La corrélation est significative à 99%.

	a	b	R <sup>2</sup>	Significativité
Polychètes Loire	0,0137	2,2934	0,8230	++
Polychètes Seine	0,0077	8,0709	0,6650	-
Scrobiculaires Loire	0,0091	1,8961	0,8134	+
Scrobiculaires Seine	0,0054	4,0317	0,1568	-

Des corrélations positives ont été observées entre les concentrations dans les sédiments et les concentrations dans le biota. Il semble donc que plus la concentration de

BDE-47 dans le milieu augmente, plus les espèces contiennent de BDE-47. Cependant, les corrélations n'étaient significatives que pour les organismes originaires de l'estuaire de la Loire.

L'étude des PBDE dans d'autres maillons de réseaux alimentaires permettra d'évaluer leur capacité de transfert à d'autres organismes.

### **I.3. Bioaccumulation des PBDE dans les organismes présents dans la colonne d'eau**

Les organismes présents dans la colonne d'eau peuvent être exposés aux contaminants par différentes voies :

- par contact cutané direct avec les contaminants présents dans la colonne d'eau
- en ingérant des proies contenant ces contaminants.

Bien que non endogés, ces organismes sont tout de même en contact avec les particules sédimentaires en suspension dans la colonne d'eau et avec les sédiments présents dans le tube digestif de certaines espèces comme les crevettes et les poissons (Marchand *et al.*, 1977).

#### **I.3.1. Contamination des espèces étudiées**

Le tableau XXIX représente les valeurs minimales et maximales de PBDE mesurées dans les différentes espèces.

Le BDE-47 était le seul congénère de PBDE présent à des niveaux détectables dans les algues *Fucus ceranoïdes* présentes sur le site de Saint-Nazaire. Dans le zooplancton, le BDE-47 était toujours le congénère majoritaire mais du BDE-99 et du BDE-28 ont également été détectés.

**Tableau XXIX :** Concentrations de PBDE minimales et maximales (ng g<sup>-1</sup> lipides) dans les organismes originaires de Loire et de Seine

		N	BDE-28	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154	BDE-209
<b>Algues</b>	<b>Loire</b>	1	ND	2,20	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Zooplancton</b>	<b>Loire</b>	2	ND-2,40	9,21 – 10,50	2,12 – 3,23	ND	ND	ND	ND
<b>Crevettes grises</b>	<b>Loire</b>	7	ND – 8,2	16,0-22,2	ND-15,2	ND-13,9	ND	ND	ND
<b>Crevettes blanches</b>	<b>Loire</b>	6	ND-25,4	14,7-40,2	ND-25,5	ND-2,0	ND	ND-2,4	
	<b>Seine</b>	1	31,2	48,6	12,0	6,6	ND	ND	ND
<b>Crevettes roses</b>	<b>Loire</b>	4	ND-5,4	9,2-28,6	ND-5,0	ND	ND	ND-2,2	ND
<b>Soles</b>	<b>Loire</b>	15	2-4.5	15.4-63.9	3.6-26.9	2.3-20.7	2.3-7	2.1-9	ND
<b>Flets</b>	<b>Loire</b>	35	ND-3.7	7.9-50.8	ND-12.4	ND-16.8	ND-5.3	ND-3.7	ND
	<b>Seine</b>	25	ND-27	63.7-799	ND-12.9	7.4-119.7	ND-13.1	3.1-97	ND
<b>Anguilles</b>	<b>Loire</b>	18	ND-0.4	0.6-2.3	0.2-0.53	0.2-0.6	ND-0.3	ND-0.3	ND
	<b>Seine</b>	12	0.5-2.7	30.7-73.2	4.3-10.5	6.7-18	0.9-6.8	1.1-6.1	ND
<b>Crabes</b>	<b>Loire</b>	2	< 2	13 – 15	4.2 – 8.5	< 2	< 2	< 2	ND

Dans les soles (*Solea solea*), tous les congénères ont été détectés et dans tous les échantillons. Le BDE-47 était toujours le congénère majoritaire suivi du BDE-99, du BDE-100, du BDE-154, du BDE-153 et du BDE-28. Aucune différence significative de concentrations en PBDE dans les soles (*S. solea*) n'a pu être mise en évidence entre les deux sites de pêche à aucune date.

Dans les flets (*Platichthys flesus*), notamment ceux de Loire, de nombreux échantillons possédaient peu de congénères autres que le BDE-47, ce qui explique le grand nombre de valeurs non détectées. En Seine, par contre, la majorité des individus possédaient tous les congénères de PBDE étudiés à des niveaux détectables. Les concentrations de PBDE détectées dans les flets (*P. flesus*) de Seine étaient significativement (99%) plus élevées que celles détectées dans les individus de Loire. Deux échantillonnages de vingt flets chacun menés dans les estuaires de Loire et de Seine en janvier et février 2004 nous ont permis de montrer qu'il existait une faible variabilité dans ces populations. En effet, le coefficient de variation obtenu dans la population de Loire était de 2,4% et de 5,6% dans celle de Seine. Ceci indique que, quelque soit l'individu prélevé dans ces populations, sa concentration en PBDE sera représentative du reste de la population.

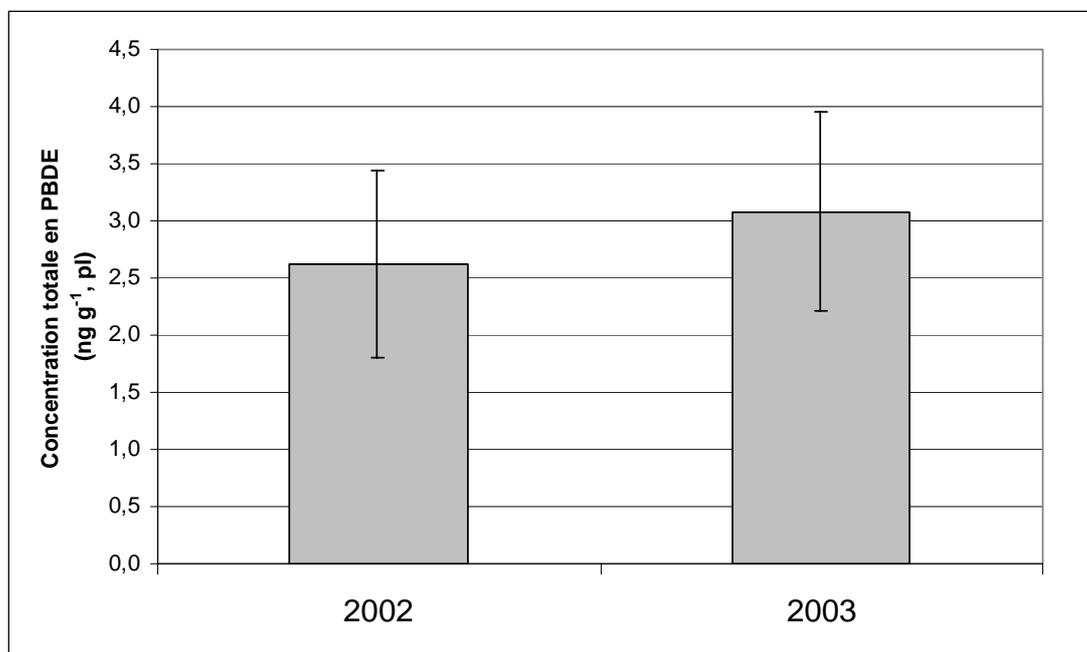
Dans les anguilles (*Anguilla anguilla*) de Loire, les congénères majoritairement retrouvés étaient les BDE-47, -99 et -100 alors que dans les anguilles de Seine, tous les congénères ont été détectés. Les concentrations de PBDE détectées dans les anguilles (A.

*anguilla*) de chaque site de Seine étaient significativement (99%) plus élevées que celles détectées dans les individus de Loire. La comparaison intrasite en Loire a révélé que les concentrations obtenues dans les individus du site de Poses étaient significativement (95%) plus élevées que celles du site de Val de la Haye.

Enfin, dans les crabes (*Carcinus maenas*), tous les congénères ont été détectés sauf le BDE-153 dans un échantillon.

**L'observation la plus intéressante est que la présence de chaque congénère augmente lorsque le niveau trophique augmente.** Cependant, ces congénères sont peut-être présents dans les niveaux trophiques inférieurs mais à des niveaux non détectables.

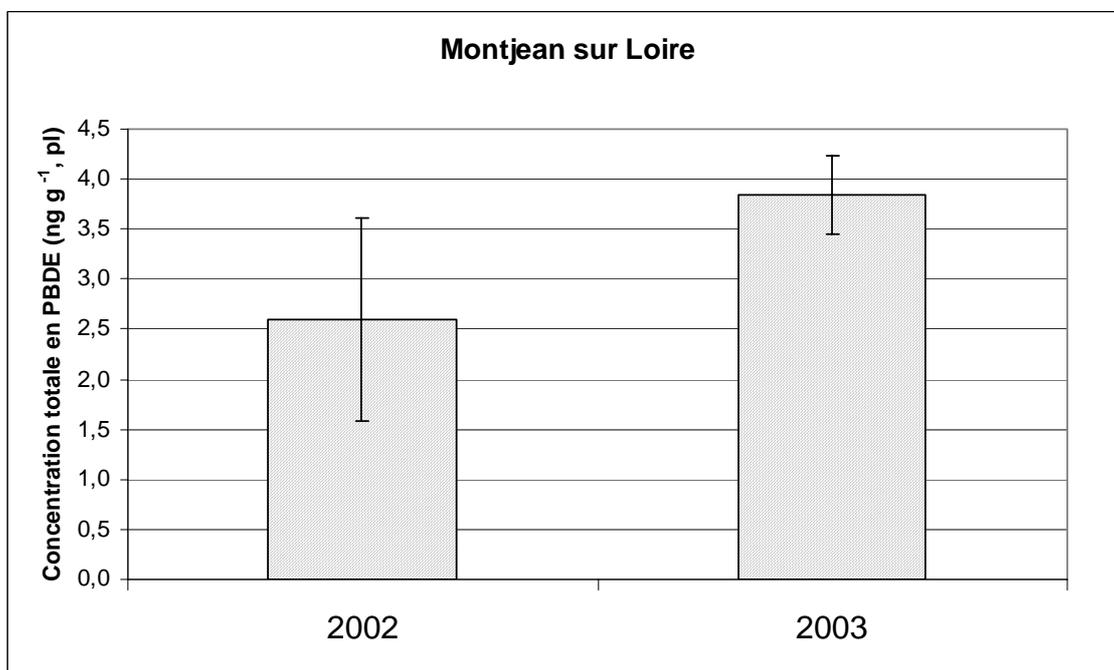
L'étude des anguilles de Loire dans le cadre du « Tableau de Bord Anguille » nous a permis d'obtenir des données, à une année d'intervalle, sur les mêmes sites (entre Angers et Ancenis). Les données globales (prenant en compte tous les sites indifféremment) sont représentées sur la figure 33.



**Figure 33 :** Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g<sup>-1</sup>, pl) dans les anguilles pêchées entre Angers et Ancenis en 2002 et 2003.

L'étude des données globales ne nous permet pas de conclure à une différence significative entre les deux années d'échantillonnage. Une grande partie des échantillons a été

prélevée dans la zone de Montjean-sur-Loire et en ne prenant en compte que ces données, la figure 34 a été obtenue.



**Figure 34 :** Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g<sup>-1</sup>, pl) dans les anguilles pêchées à Montjean sur Loire en 2002 et 2003.

Sur ce site, les concentrations moyennes obtenues en 2003 étaient à 90% significativement plus élevées que celles de 2002. En se basant sur ce dernier résultat, il existerait donc une faible tendance à l'augmentation des concentrations en PBDE sur ce site. Cependant, compte tenu du fait que ces espèces se déplacent constamment dans l'estuaire, on peut penser qu'il s'agit d'une coïncidence. Un suivi sur plusieurs années serait plus pertinent et permettrait à l'avenir d'évaluer les tendances temporelles de ces contaminants dans les anguilles et de déterminer plus précisément leur augmentation ou leur diminution dans l'environnement.

En revanche, Johanssen *et al.* (2004) ont mesuré les concentrations de PBDE dans les moules prélevées dans le cadre du Mussel Watch entre 1981 et 2003. L'étude montre que les trois congénères prédominants (47>99>100) ont augmenté de façon exponentielle dans les moules de l'estuaire de la Seine entre 1981 et 1999/2001. Ce taux est resté constant entre 1999 et 2001 puis les concentrations de BDE-47 et -99 ont diminué significativement entre 2002 et 2003.

Les valeurs obtenues montrent donc que :

- 1- **Les sites de l'estuaire de la Seine sont plus contaminés que ceux de l'estuaire de la Loire.** Ceci peut s'expliquer par le fait que l'estuaire de la Seine reçoit beaucoup d'apports domestiques provenant des 16 millions d'habitants vivants sur son bassin versant mais également d'apports de type industriels (provenant notamment d'industries fabriquant des textiles ou des plastiques).
- 2- **La partie nord de l'estuaire de la Loire est plus contaminée que la partie sud du même estuaire.** Ceci pourrait être dû à un apport de contaminants par le principal chenal (chenal de navigation) de l'estuaire, situé près de la rive nord.

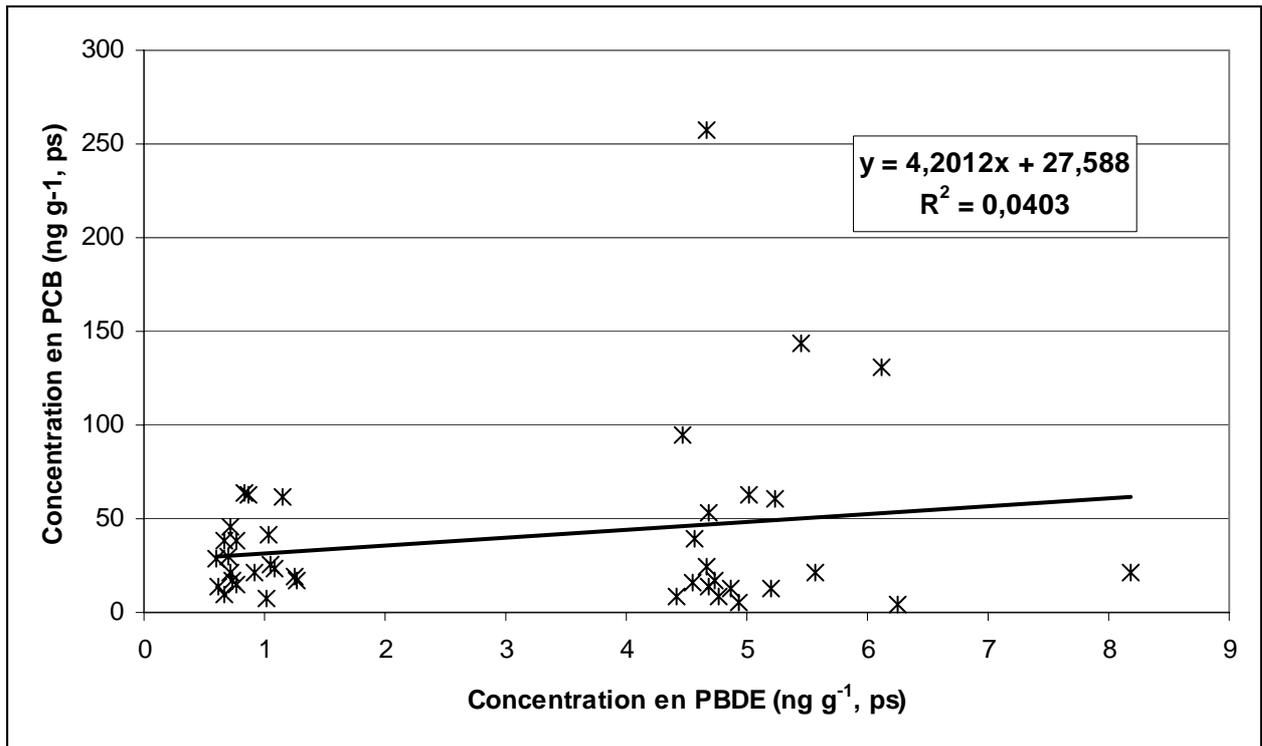
### **I.3.2. Comparaison des concentrations en PCB et en PBDE**

Plusieurs auteurs ont étudié les relations entre ces deux contaminants très similaires et omniprésents dans l'environnement afin de déterminer si leurs concentrations augmentaient en même temps dans les organismes. En effet, les PCB et les PBDE possèdent des caractéristiques communes qui peuvent faciliter leur comparaison directe (Breivik *et al.*, 2004) :

- Ils ont été ou sont produits en grands volumes par l'industrie chimique.
- Ils ont été ou sont produits sous la forme de mélanges chimiques.
- Ils ont tous les deux été utilisés dans de nombreuses applications.
- Leurs structures chimiques et leurs propriétés physico-chimiques sont très similaires.

Lors de l'étude réalisée en commun avec le Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin de Brest (cf. I.5.1 Influence des contaminants présents dans l'environnement sur le profil génotypique des flets (*P. flesus*) de Seine et de Loire) nous avons analysé les concentrations de PCB et de PBDE dans chaque échantillon.

Les relations obtenues dans la présente étude sont présentées sur la figure 35. Cette relation a été obtenue en prenant la valeur de la limite de quantification soit  $0,05 \text{ ng g}^{-1}$ , ps pour les valeurs inférieures à la limite de quantification.



**Figure 35 :** Concentrations de PBDE dans les filets de flets de Loire et de Seine versus concentrations de PCB dans les filets des mêmes poissons.

Seule une faible tendance à l'augmentation est observée entre ces deux contaminants. Il ne semble donc pas exister de relations importantes entre les concentrations en PBDE et les concentrations en PCB mesurées dans nos filets.

### **I.3.3. Facteurs influençant la bioaccumulation**

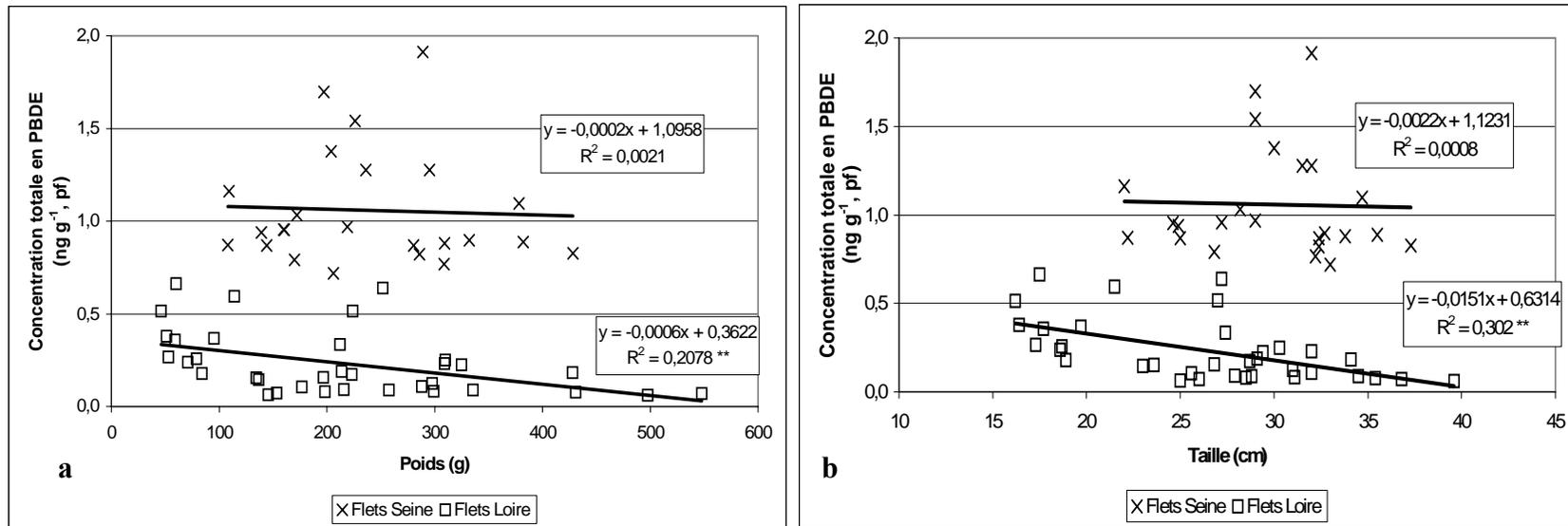
Certaines caractéristiques peuvent engendrer des différences d'accumulation des contaminants dans les organismes. C'est le cas de variables telles que l'âge des individus (bien souvent proportionnel à la taille et/ou le poids des organismes), le site préférentiel de stockage des contaminants dans l'organisme, les différences entre les sites ou les évolutions dans le temps.

#### **I.3.3.1. Relation entre le poids ou la taille des poissons et leur degré de contamination par les PBDE.**

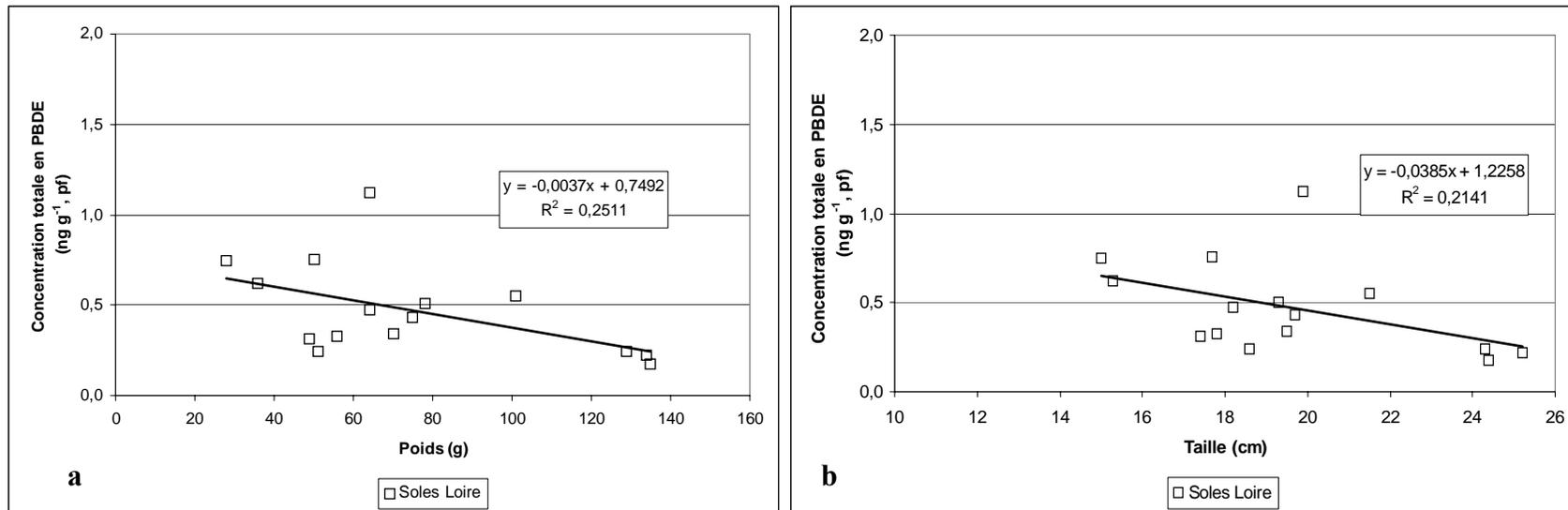
Les poids frais et les tailles (déterminées par mesure de la longueur totale) des poissons appartenant aux trois espèces étudiées (soles, flets et anguilles) ont été mesurés afin de rechercher l'existence éventuelle de corrélations entre les caractéristiques biométriques des poissons et leurs concentrations en PBDE.

Les figures 36 et 37 représentent les corrélations obtenues pour les flets (fig. 36a par rapport au poids et fig. 36b par rapport à la taille) et les soles (fig. 37a par rapport au poids et figure 37b par rapport à la taille)

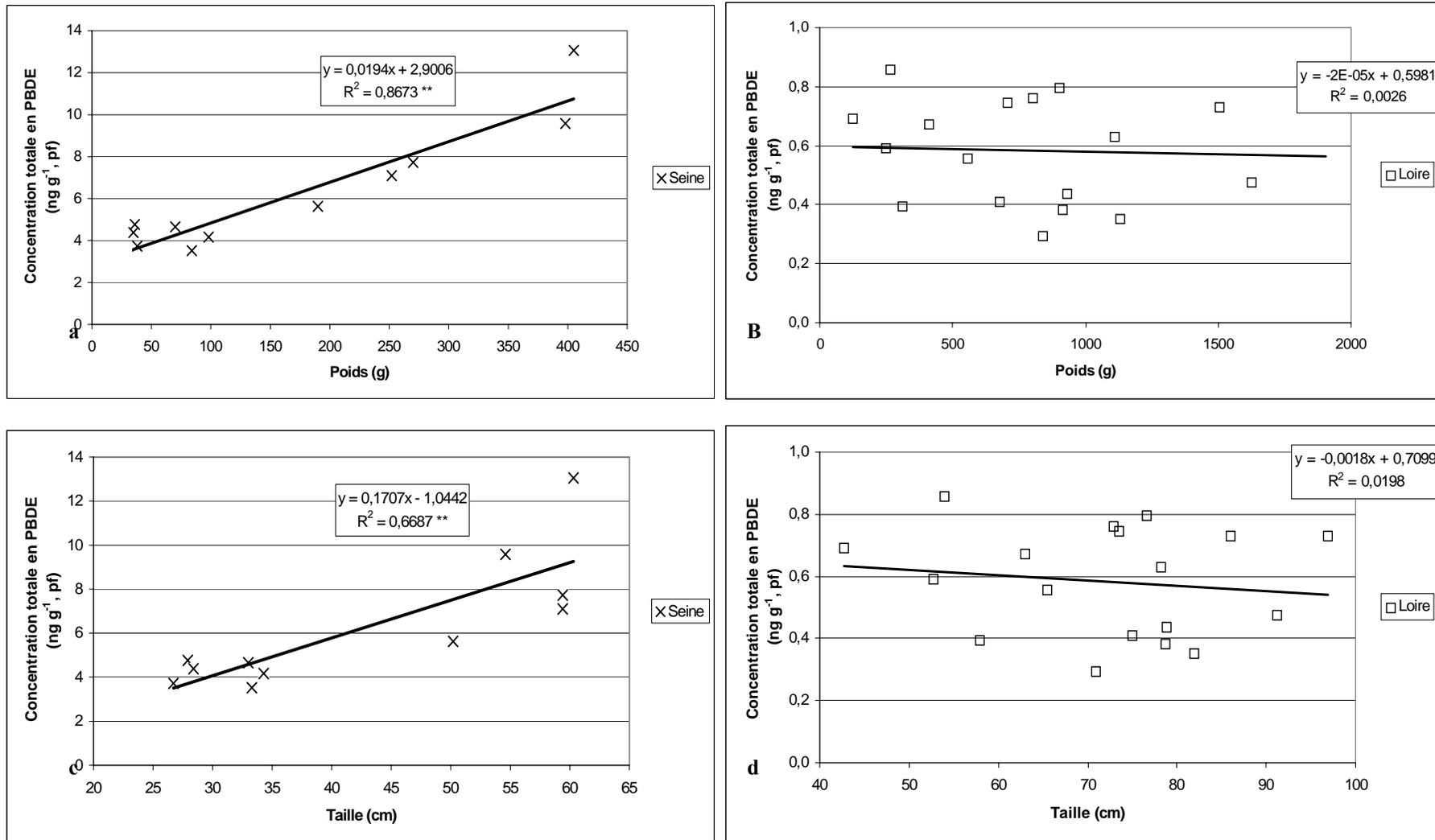
Aucune corrélation positive entre la taille ou le poids des flets et des soles et leur concentration en PBDE n'a été mise en évidence. Au contraire, dans les flets de Loire, le poids ou la taille et la concentration en PBDE sont corrélés négativement de façon significative ( $\alpha=0,05$ ). Cela ne signifie pas forcément qu'il n'existe pas de relation entre ces facteurs. En effet, dans les précédentes études réalisées sur ce sujet de larges gammes de poids et de taille étaient utilisées afin de démontrer ces corrélations et les concentrations en PBDE obtenues dans leurs échantillons étaient bien supérieures aux nôtres (gammes de tailles entre 20 et 40 cm suivant les poissons étudiés et gammes de poids d'environ 10 kg dans ces études ; gamme de taille de 10 à 25 cm et gamme de poids de 0,12 à 0,5 kg dans cette étude) (Loganathan *et al.*, 1995 ; Manchester-Neesvig *et al.*, 2001 ; Hale *et al.*, 2001). Les pêches effectuées pour capturer les soles et les flets ne nous ont pas permis d'obtenir de poissons ayant des tailles et des longueurs très variées. La longueur des poissons et leur poids étant directement liés à leur âge, les poissons pêchés devaient avoir des âges relativement proches. A titre d'exemple, 83 % des flets étudiés avaient une taille supérieure à 23 cm ce qui correspond à des individus de même âge (âge 2) (Costil *et al.*, 2002).



**Figure 36 :** Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g<sup>-1</sup>, pf) en fonction du poids (a) et de la taille (b) des flets issus de Loire et de Seine.



**Figure 37 :** Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g<sup>-1</sup>, pf) en fonction du poids (a) et de la taille (b) des soles issues de Loire.



**Figure 38 :** Evolution des concentrations totales en PBDE (ng g<sup>-1</sup>, pf) en fonction du poids (g) et de la taille (cm) des anguilles issues de Seine (a et c) et de Loire (b et d).

L'analyse des mêmes corrélations chez les anguilles montre des résultats différents suivant les sites (figures 38a, b, c et d). Pour les anguilles de Loire (fig. 38b et 38d), les résultats obtenus ne montrent aucune corrélation positive ou négative entre leur taille ou leur poids et la concentration en PBDE malgré des gammes de poids et de tailles importantes (gamme de tailles entre 43 et 97 cm et gammes de poids entre 124 et 1900 g). Cependant, les concentrations obtenues dans ces individus sont faibles et ne varient que de quelques centaines de picogrammes. En l'absence de tendance marquée de l'un ou l'autre des paramètres corrélés, il n'est pas étonnant de ne pas rencontrer de corrélations significatives. Par contre en Seine (fig. 38a et 38c), les individus capturés possédaient des concentrations plus fortes et plus variables d'un individu à l'autre. Malgré une gamme restreinte de poids (35 à 405 g) et de tailles (27 à 60 cm), les corrélations entre ces paramètres biométriques et la concentration en PBDE étaient positives et significatives à 99%. Ceci pourrait signifier que la concentration en PBDE dans ces individus augmente avec l'âge indiquant une accumulation de ces composés tout au long de la vie.

### I.3.3.2. L'organotropisme

Afin d'étudier un éventuel stockage différentiel des PBDE dans les différents organes, des analyses sur des foies de trois espèces de poissons (soles, flets et anguilles) ont donc été menées en parallèle des analyses sur les muscles. Afin d'obtenir une quantité assez importante de cet organe pour réaliser une analyse, des pools de 3 foies ont été constitués pour les soles et les flets. Pour les anguilles possédant des foies plus volumineux, seuls 2 foies ont été rassemblés. Deux réplicats ont été réalisés pour chaque poisson plat alors que seul un dosage a pu être effectué sur les anguilles.

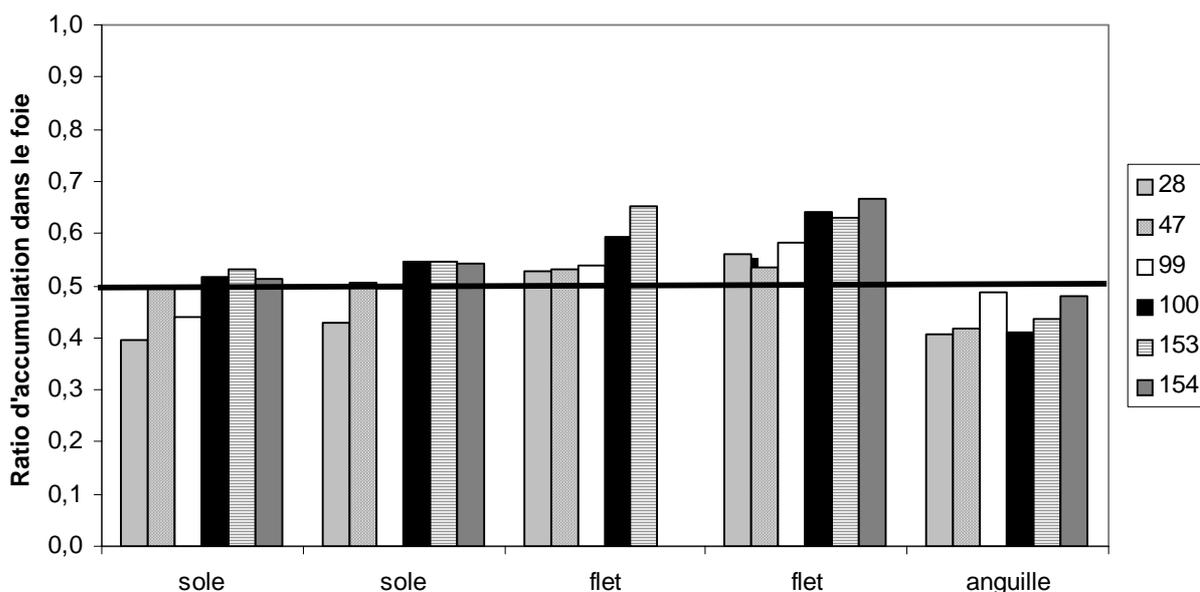
Le tableau XXX permet de comparer les concentrations obtenues dans les deux tissus étudiés.

**Tableau XXX :** Concentrations moyennes en PBDE totaux (ng g<sup>-1</sup>, pl) dans les filets et dans les foies de soles, de flets et d'anguilles.

Espèce	ΣPBDE dans les muscles (ng g <sup>-1</sup> , pl)	ΣPBDE dans le foie (ng g <sup>-1</sup> , pl)
Sole	59,6	58,4
	79,9	83,7
Flet	51,1	64,1
	57,1	73,8
Anguille	72,2	54,6

Chez les flets, les concentrations de PBDE obtenues dans les foies sont légèrement supérieures à celles obtenues dans les muscles. Chez les soles, les concentrations sont quasiment équivalentes entre les muscles et les foies. Chez les anguilles, les PBDE sont un peu moins présents dans le foie que dans les muscles.

En général, les PBDE ont tendance à s'accumuler davantage dans le foie que dans les muscles ou les tissus adipeux (Burreau *et al.*, 2000b). Afin d'étudier l'existence d'une accumulation préférentielle des PBDE dans cet organe, la concentration de PBDE dans le foie a été divisée par la concentration dans le foie additionnée à la concentration dans les filets (Boon *et al.*, 2002 ; Voorspoels *et al.*, 2003). Le ratio obtenu a été utilisé comme indicateur : un ratio égal à 0,5 indique qu'il n'existe pas de site d'accumulation privilégié, un ratio supérieur à 0,5 indique que les contaminants vont avoir tendance à s'accumuler dans le foie alors qu'avec un ratio inférieur à 0,5, ils s'accumuleront plutôt dans le muscle (figure 39).



**Figure 39 :** Ratio d'accumulation de six congénères dans le foie de différentes espèces de poissons.

Le ratio moyen trouvé chez les soles est de 0,50 ; il est de 0,59 chez les flets et de 0,44 chez les anguilles. Ceci indiquerait que les soles n'aurait pas de lieu de stockage privilégié entre le foie et les muscles, que les flets auraient une légère tendance à stocker ces contaminants dans le foie et que les anguilles les stockeraient plutôt dans les muscles. Toutefois, ces tendances ne sont pas assez marquées pour invalider l'utilisation des concentrations dans les muscles comme représentatives de la contamination générale des poissons.

En observant de plus près les congénères, il est intéressant de remarquer que l'accumulation des congénères les plus bromés tend à se faire un peu plus dans le foie.

#### **I.4. Biomagnification des PBDE dans les chaînes alimentaires**

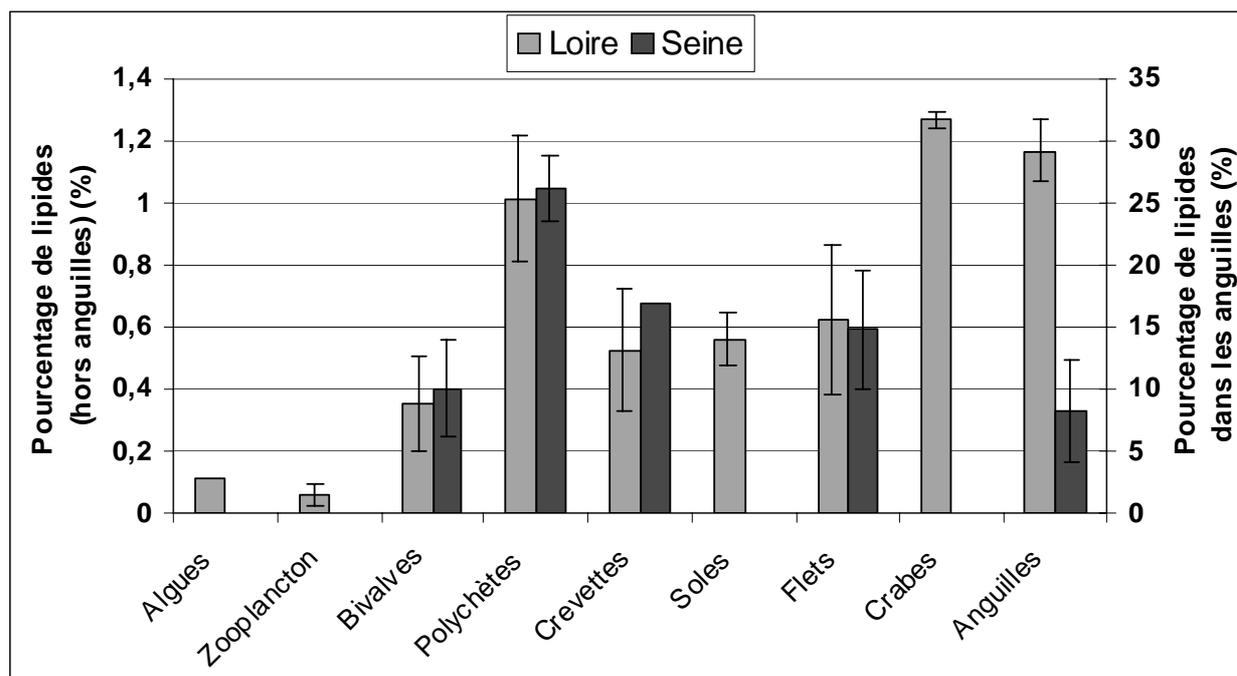
Les données obtenues ont donc permis de mettre en évidence la présence des PBDE dans tous les organismes étudiés. L'analyse des niveaux de contamination dans chaque espèce permettra de déterminer si les concentrations de PBDE augmentent au fur et à mesure que l'on s'élève dans la chaîne alimentaire et donc si un phénomène de biomagnification existe pour ces produits.

Les molécules étudiées étant très lipophiles, il semblait intéressant dans un premier temps de déterminer la possible existence d'un lien entre le taux de lipides dans les organismes et leur concentration en PBDE.

##### **I.4.1. Relation entre la concentration en contaminants et le taux de lipides des organismes**

Les moyennes des taux de lipides observés dans les différentes espèces étudiées ont été représentées sur la figure 40.

Les anguilles de Loire et de Seine possèdent un taux de lipides significativement plus élevé que celui des autres espèces ( $\alpha=0,99$ ). La différence des taux de lipides entre les anguilles de Loire et celles de Seine provient du fait que les premières avaient déjà subi leur transformation en anguilles argentées (et donc avaient fait leurs réserves de lipides pour entamer leur migration) alors que les secondes n'étaient encore qu'au stade d'anguilles jaunes (cf I.1.3.3 Le peuplement ichtyologique). Aucune différence n'a été relevée entre les taux de lipides des anguilles pêchées en Loire dans l'estuaire et dans la rivière (respectivement 27,5 et 29,5%).



**Figure 40 :** Moyennes et écart-types des différents pourcentages de lipides observés dans les différentes espèces de Loire et de Seine étudiées.

Le tableau XXXI montre les corrélations existant entre le pourcentage de lipides dans les organismes et leur concentration en BDE-47.

**Tableau XXXI :** Relations entre le pourcentage de lipides et la concentration en BDE-47 ( $\text{ng g}^{-1}$ , pf) dans les polychètes et les scrobiculaires (*N. diversicolor* et *S. plana*) et relations entre le pourcentage de lipides et la concentration totale en PBDE ( $\text{ng g}^{-1}$ , pf) dans les autres organismes. a : pente, b : ordonnée à l'origine,  $R^2$  : coefficient de détermination coefficient. -: La corrélation n'est pas significative, +: La corrélation est significative à 95%, ++: La corrélation est significative à 99%.

	a	b	$R^2$	Significativité
Polychètes Loire	0,0686	- 0,0206	0,7694	++
Polychètes Seine	0,1545	- 0,0615	0,939	++
Scrobiculaires Loire	0,0451	-0,0031	0,9482	++
Scrobiculaires Seine	0,095	- 0,0175	0,8442	++
Crevettes grises	0,6848	- 0,2832	0,4785	-
Crevettes blanches	0,7166	0,0038	0,3743	-
Crevettes roses	0,9506	- 0,1165	0,7898	-
Soles LOIRE	2,1512	-0,7303	0,4962	++
Flets LOIRE	0,4458	- 0,0456	0,3945	++
Flets SEINE	-0,1323	1,3149	0,0007	-
Anguilles LOIRE	0,0055	0,4213	0,0063	-
Anguilles SEINE	0,6988	0,6466	0,9095	++

Toutes les corrélations étaient significatives à 99% pour les polychètes intrasédimentaires et les scrobiculaires des deux estuaires. Ainsi, plus ces organismes contiennent de lipides, plus leur concentration en BDE-47 sera élevée. Il est possible de considérer que cela serait également vrai pour les autres bivalves.

Des tendances à l'augmentation des concentrations en PBDE lorsque les pourcentages de lipides augmentent ont été observées dans les trois espèces de crevettes mais aucune corrélation n'était significative.

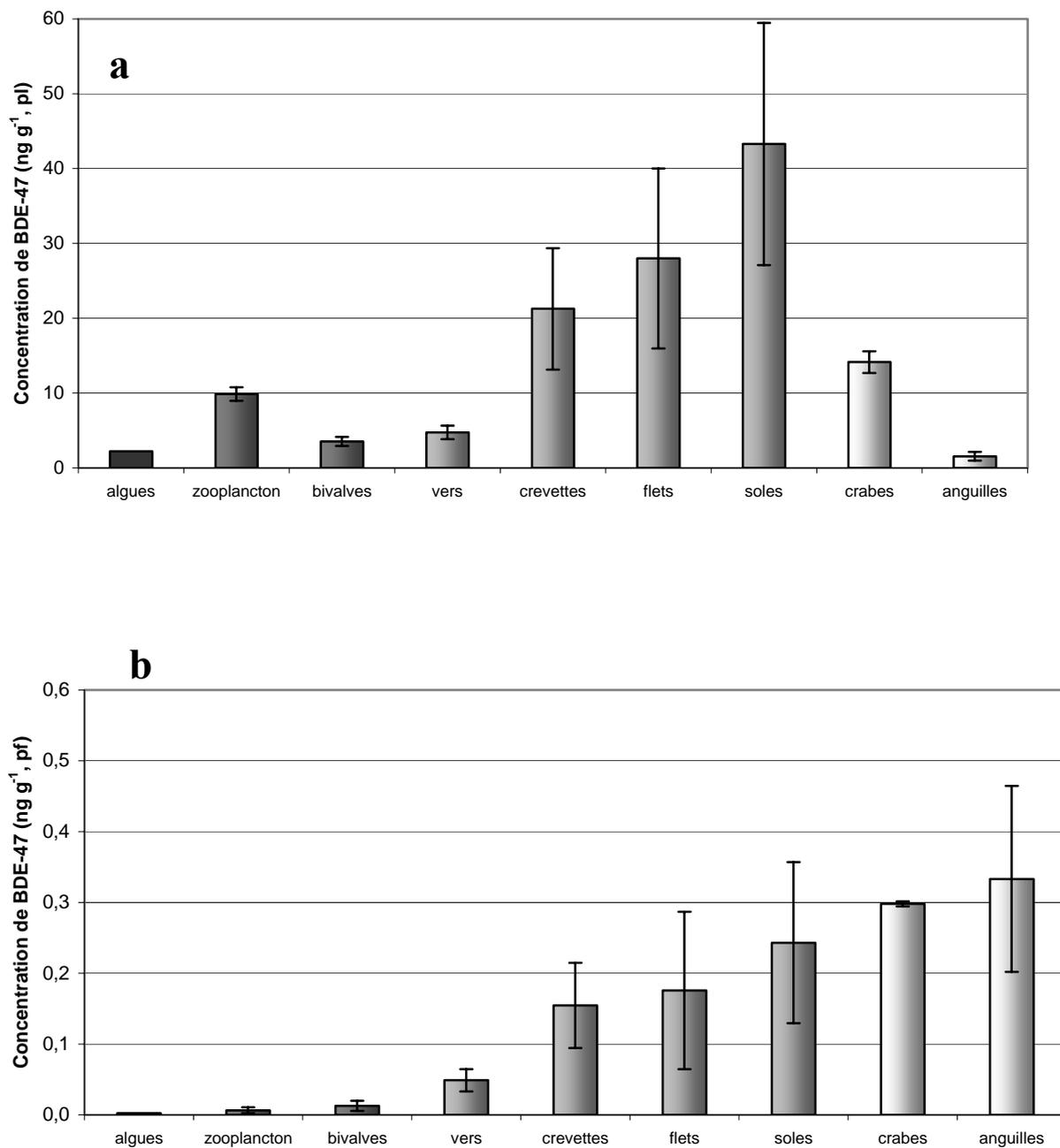
Les résultats obtenus pour les poissons sont très variables selon l'espèce et le site étudié. Ainsi, les soles et les flets de Loire ainsi que les anguilles de Seine montrent des corrélations positives très significatives. Les anguilles de Seine ont le plus fort coefficient de corrélation ( $R = 0,95$ ). Par contre, pour les flets de Seine et les anguilles de Loire, ce n'est pas le cas.

Cependant, ces informations ne permettent pas d'indiquer formellement si la consommation d'organismes riches en lipides tend à contaminer plus fortement les prédateurs. Cela dépendra de l'état de contamination du milieu. Ainsi, plus l'environnement contiendra de PBDE, plus les prédateurs risqueront d'être plus fortement contaminés en consommant des proies riches en lipides.

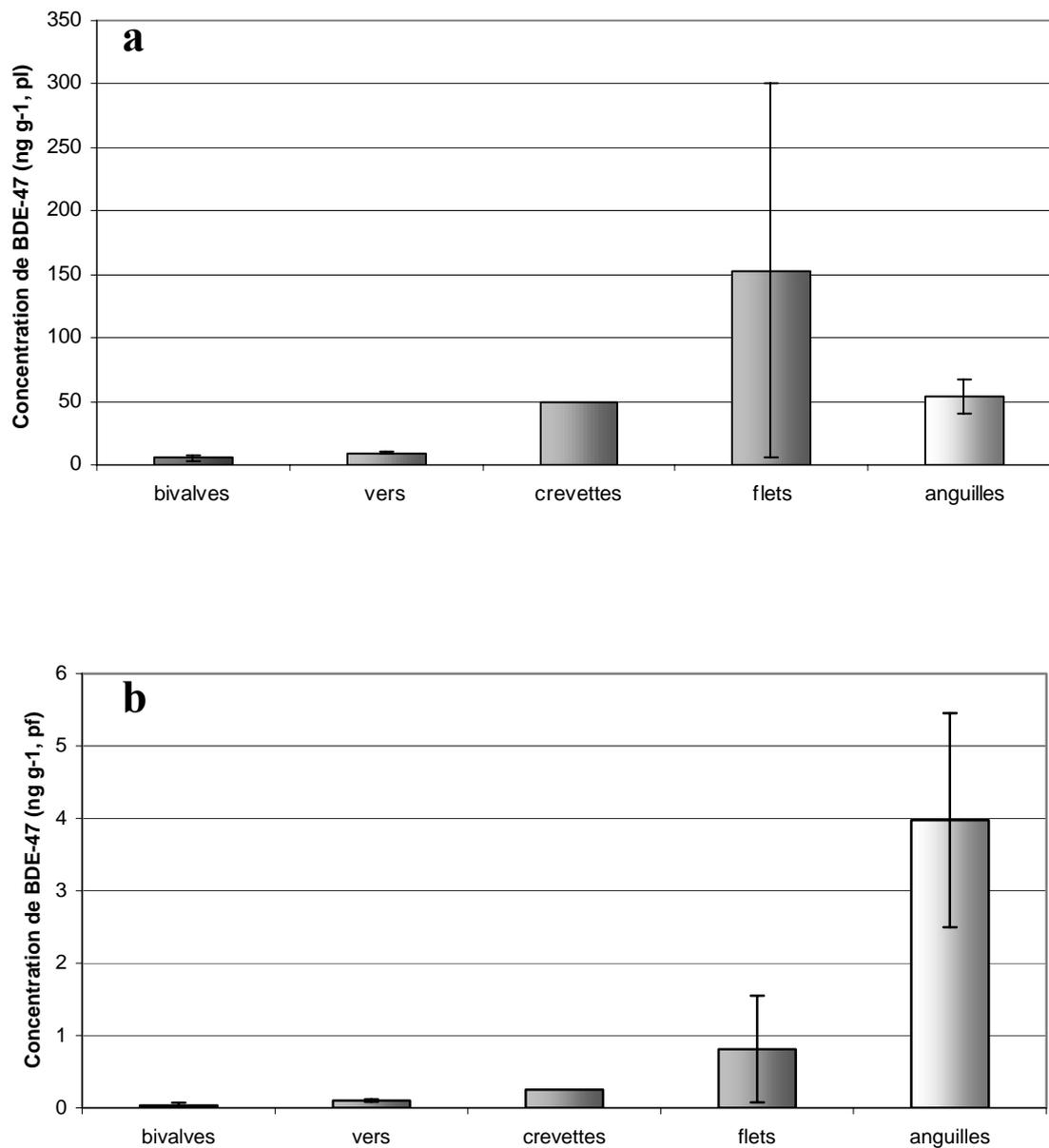
#### **I.4.2. La biomagnification**

La principale question engendrée par la présente étude est la suivante : existe-t-il un phénomène de biomagnification des PBDE dans les chaînes alimentaires étudiées ? Plusieurs études ont montré la capacité de biomagnification des PBDE dans l'environnement aquatique (Boon *et al.*, 2002 ; Law *et al.*, 2003 ; Voorspoels *et al.*, 2003 ; Wolkers *et al.*, 2004) et il semblait intéressant d'étudier ce phénomène avec les espèces présentes dans les estuaires de Loire et de Seine.

Les figures 41 et b et 42a et b représentent les concentrations de BDE-47 à chaque niveau des chaînes alimentaires de Loire et de Seine. L'étude s'est focalisée sur le BDE-47 car il s'agissait du seul congénère toujours détecté dans les êtres vivants. De plus, Burreau *et al.* (1999, 2004) ont montré que les tetra-BDE avaient une forte capacité de biomagnification.



**Figure 41a et b :** Evolution des concentrations de BDE-47 en ng g<sup>-1</sup> de poids de lipides (pl III-11a) et en ng g<sup>-1</sup> de poids frais (pf III-11b) dans différentes espèces de la chaîne alimentaire de l'estuaire de la Loire. ■ producteurs primaires, ■ consommateurs primaires, ■ omnivores, □ nécrophages et supercarnivores.



**Figure 42a et b :** Evolution des concentrations de BDE-47 en ng g<sup>-1</sup> de poids de lipides (pl III-12a) et en ng g<sup>-1</sup> de poids frais (pf III-12b) dans différentes espèces de la chaîne alimentaire de l'estuaire de la Seine. ■ consommateurs primaires, ■ omnivores, ■ nécrophages et supercarnivores.

Les profils observés sont très différents selon la façon d'exprimer la concentration de BDE-47 (par rapport au poids de lipides 41a et 42a ou par rapport au poids frais 41b et 42b). En effet, les taux de lipides étant très différents d'une espèce à l'autre (cf. I.4.1 Comparaison du taux de lipides dans les différents organismes), lorsque les concentrations sont exprimées par rapport au poids de lipides, elles sont plus faibles chez les espèces possédant le plus de lipides comme l'anguille. Ceci est dû à un phénomène de "dilution biologique". Le fait de ramener ces concentrations par rapport au poids frais permet d'obtenir une base de comparaison plus fiable entre les espèces (Wolkers *et al.*, 2004). Ainsi, il sera plus judicieux, par la suite, de se référer aux figures 41 et 42.

En accord avec les précédentes études, le BDE-47 se biomagnifie bien dans les chaînes alimentaires puisque le facteur de biomagnification (= concentration dans le prédateur / concentration dans la proie) entre le niveau le plus bas (les algues) et le niveau le plus élevé (les anguilles) est de 137 dans l'estuaire de la Loire et de 113 dans l'estuaire de la Seine entre les bivalves et les anguilles. La plus forte augmentation de concentration a lieu entre les consommateurs primaires et les omnivores. Le profil obtenu semble être en accord avec la position des espèces dans la chaîne alimentaire et donc avec leur régime alimentaire.

Afin d'étudier plus précisément cette biomagnification, une modélisation mathématique des données a été réalisée afin de savoir si une représentation à l'aide d'une équation était possible.

#### **I.4.3. Modélisation mathématique**

Le BDE 47 était le seul composé pour lequel les concentrations n'étaient jamais nulles. D'un point de vue mathématique, il était donc possible de réaliser pour ce congénère une transformation logarithmique afin d'obtenir sa modélisation mathématique dans les organismes étudiés ici. Ce modèle permettra également d'atténuer le fait que plus le niveau trophique est élevé, plus les valeurs sont dispersées.

La Seine et la Loire ont été traitées indépendamment et une modélisation du logarithme de BDE-47 en fonction des espèces et du taux de lipides a été réalisée. Les anguilles ont été exclues car elles perturbaient le modèle. Cette modélisation ne peut pas être

généralisée aux autres PBDE du fait de l'existence de valeurs nulles (on ne peut pas calculer le logarithme de 0 qui vaut « moins l'infini »).

### I.4.3.1. Modélisation de PBDE 47 pour la Seine

L'analyse de la variance pour les résultats obtenus en Seine a tout d'abord été réalisée (tableau XXXII).

**Tableau XXXII :** Analyse de la variance pour les résultats de Seine.

Sommes des carrés de type III

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	Ratio F	Proba.
Espèce	37.4136	7	5.34479	53.34	0.0000
Lipides %	3.17613	1	3.17613	31.70	0.0000
Résidu	1.90379	19	0.100199		
Total (corrigé)	58.5499	27			

R<sup>2</sup>(ajusté pour les ddl) = 95.38%

Le modèle est très significatif et très déterminatif (R<sup>2</sup> = 95.38%) non seulement au niveau du taux de lipide mais également au niveau des concentrations entre les espèces.

Les coefficients du modèle ont été calculés pour chaque variable (tableau XXXIII).

**Tableau XXXIII :** Estimation de la constante et des coefficients à appliquer à chaque variable. Le tableau affiche les intervalles de confiance à 95.0% pour les coefficients du modèle. B-S : Scrobiculaires, B-I : Mies , B-T : Tellines, B-M : Moules, B-C : Coques, Ner : Nereis, C-B ; crevettes blanches.

Paramètre	Estimation	Erreur		V.I.F.
		type	Limite inf.	
CONSTANTE	-4.60701	0.345374	-5.32988	-3.88413
Espèce (B-S)	-0.50371	0.168492	-0.85637	-0.15105
Espèce (B-I)	-0.71297	0.280248	-1.29925	-0.12640
Espèce (B-T)	-0.66025	0.208635	-1.09693	-0.22357
Espèce (B-M)	-1.17493	0.332807	-1.87151	-0.47836
Espèce (B-C)	-0.66999	0.301103	-1.30021	-0.03978
Espèce (Ner)	-0.57621	0.225805	-1.04883	-0.10359
Espèce (C-B)	1.36642	0.284826	0.77027	1.96257
Lipides %	2.74444	0.487458	1.72418	3.7647

L'équation du modèle ajusté est la suivante :

$$\text{LOG(BDE-47)} = -4.60701 - 0.50371 \cdot \text{I1}(1) - 0.71297 \cdot \text{I1}(2) - 0.66025 \cdot \text{I1}(3) - 1.17493 \cdot \text{I1}(4) - 0.66999 \cdot \text{I1}(5) - 0.57621 \cdot \text{I1}(6) + 1.36642 \cdot \text{I1}(7) + 2.74444 \cdot \text{Lipides \%}$$

Avec :

$$I1(1) = 1 \text{ si Espèce= B-S, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

$$I1(2) = 1 \text{ si Espèce= B-I, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

$$I1(3) = 1 \text{ si Espèce= B-T, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

$$I1(4) = 1 \text{ si Espèce= B-M, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

$$I1(4) = 1 \text{ si Espèce= B-C, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

$$I1(5) = 1 \text{ si Espèce= Ner, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

$$I1(6) = 1 \text{ si Espèce= C-B, } -1 \text{ si Espèce= Flet, sinon } 0$$

En ce qui concerne l'estimation de l'influence des espèces, l'espèce Flet sert de référence. Son coefficient n'est pas estimé et se déduit de la somme des autres à l'aide de l'équation suivante :

$$-1 * -0.50371 -0.71297 -0.66025 -1.17493 -0.66999 -0.57621 +1.36642 = 2.93165$$

Le coefficient du pourcentage de lipide est positif donc, quand le pourcentage de lipides s'accroît, le logarithme de BDE-47 s'accroît proportionnellement.

#### **I.4.3.2. Modélisation du BDE-47 pour la Loire**

L'analyse de la variance pour les résultats obtenus en Seine a tout d'abord été réalisée (tableau XXXIV).

**Tableau XXXIV** : Analyse de la variance pour les résultats de Loire.

Sommes des carrés de type III					
Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	Ratio F	Proba.
Espèce	64.9178	8	7.20197	110.76	0.0000
Lipides %	3.482	1	3.482	53.55	0.0000
Résidu	2.47083	38	0.0650219		
Total (corrigé)	85.7338	48			

$$R^2(\text{ajusté pour les ddl}) = 96.36\%$$

Comme pour le modèle de Seine, le modèle de Loire est très significatif et très déterminatif ( $R^2 = 96.36\%$ ) non seulement au niveau du taux de lipide mais également au niveau des concentrations entre les espèces.

Les coefficients du modèle ont été calculés pour chaque variable (tableau XXXV).

**Tableau XXXV :** Estimation de la constante et des coefficients à appliquer à chaque variable. Le tableau affiche les intervalles de confiance à 95.0% pour les coefficients du modèle. Alg : Algues, Zoo : Zooplancton, B-S : Scrobiculaires, Ner : Nereis, C-G : Crevettes grises, C-B : Crevettes blanches, C-R : Crevettes roses, Sle : Soles, Flt : Flets.

Paramètre	Estimation	Erreur type	Limite inf.	Limite sup.	V.I.F.
CONSTANTE	-4.14095	0.180496	-4.50635	-3.77555	
Espèce (Alg)	-2.14401	0.271525	-2.69368	-1.59434	3.37844
Espèce (Zoo)	-1.14159	0.227763	-1.60267	-0.68051	3.19128
Espèce (B-S)	-1.13119	0.112551	-1.35904	-0.90334	1.80510
Espèce (Ner)	-1.25323	0.170455	-1.59830	-0.90816	4.14020
Espèce (C-G)	0.47078	0.109537	0.24904	0.69253	1.56661
Espèce (C-B)	1.32216	0.109873	1.09973	1.54458	1.42467
Espèce (C-R)	1.45253	0.143015	1.16301	1.74205	1.86167
Espèce (Sle)	1.40303	0.111667	1.17697	1.62909	1.30720
Espèce (Flt)	0.75878	0.115903	0.76237	1.23164	1.58534
Lipides %	2.29702	0.313893	1.66158	2.93247	7.36162

L'équation du modèle ajusté est la suivante :

$$\text{LOG(BDE-47)} = -4.14095 - 2.14401 \cdot I1(1) - 1.14159 \cdot I1(2) - 1.13119 \cdot I1(3) - 1.25323 \cdot I1(4) + 0.47078 \cdot I1(5) + 1.32216 \cdot I1(6) + 1.45253 \cdot I1(7) + 1.40303 \cdot I1(8) + 0.75878 \cdot I1(9) + 2.29702 \cdot \text{Lipides \%}$$

où

$I1(1) = 1$  si Espèce= Alg, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(2) = 1$  si Espèce= Zoo, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(3) = 1$  si Espèce= B-S, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(4) = 1$  si Espèce= Ner, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(5) = 1$  si Espèce= C-G, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(6) = 1$  si Espèce= C-B, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(7) = 1$  si Espèce= C-R, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(8) = 1$  si Espèce= Sle, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

$I1(9) = 1$  si Espèce= Flt, -1 si Espèce= Crabe, sinon 0

En ce qui concerne l'estimation de l'influence des Espèces, l'Espèce Crabe sert de référence. Son coefficient n'est pas estimé et se déduit de la somme des autres par l'équation suivante :

$$-1 \cdot -2.14401 - 1.14159 - 1.13119 - 1.25323 + 0.47078 + 1.32216 + 1.45253 + 1.40303 + 0.75878 = 0.024516$$

Comme pour le modèle de la Seine, le coefficient du pourcentage de lipides est positif donc quand le pourcentage de lipides s'accroît, le logarithme de BDE-47 s'accroît proportionnellement.

### I.4.3.3. Comparaison des deux modèles :

#### I.4.3.3.i. Comparaison de l'influence du taux de Lipides :

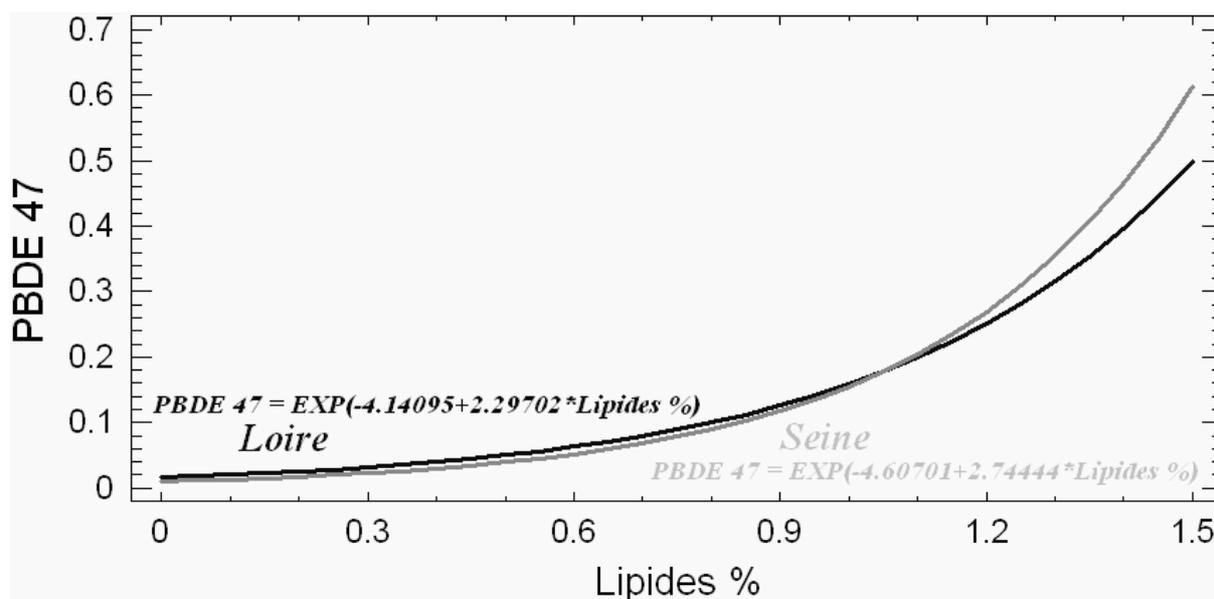
L'estimation des coefficients à appliquer aux pourcentages de lipides en Seine et en Loire ainsi que les constantes des modèles ont été comparées dans le tableau XXXVI.

**Tableau XXXVI :** Coefficients appliqués aux constantes et aux pourcentages de lipides dans les modèles de Seine et de Loire.

Coefficients	Sites	Estimation	Limite inférieure	Limite supérieure
Constante	Seine	-4.60701	-5.32988	-3.88413
	Loire	-4.14095	-4.50635	-3.77555
% Lipides	Seine	2.74444	1.72418	3.76470
	Loire	2.29702	1.66158	2.93247

La valeur estimée de la constante de Loire est comprise dans l'intervalle de confiance de la constante de Seine et inversement. La valeur estimée du coefficient du pourcentage de lipides de Loire est comprise dans l'intervalle de confiance de celle de Seine et inversement.

Les deux modèles ne sont donc pas statistiquement différents.



**Figure 43 :** Comparaison de l'évolution de la concentration en BDE-47 ( $ng\ g^{-1}$ , pf) calculée par le modèle en fonction du pourcentage de lipides pour la Seine et la Loire.

Les modèles de BDE-47 obtenus sur la Seine et la Loire sont très proches (figure 43). L'influence du pourcentage de lipides sur les variations de concentrations du BDE-47 (hors anguilles) est significative, positive, exponentielle (puisque le logarithme de BDE-47 varie proportionnellement au pourcentage de lipides) et identique pour la Seine et pour la Loire.

*1.4.3.3.ii. Comparaison de l'impact des Espèces communes*

L'estimation des coefficients à appliquer aux pourcentages de lipides en Seine et en Loire ainsi que les constantes des modèles ont été comparées dans le tableau XXXVII.

**Tableau XXXVII :** Coefficients appliqués aux constantes et aux différents organismes dans les modèles de Seine et de Loire.

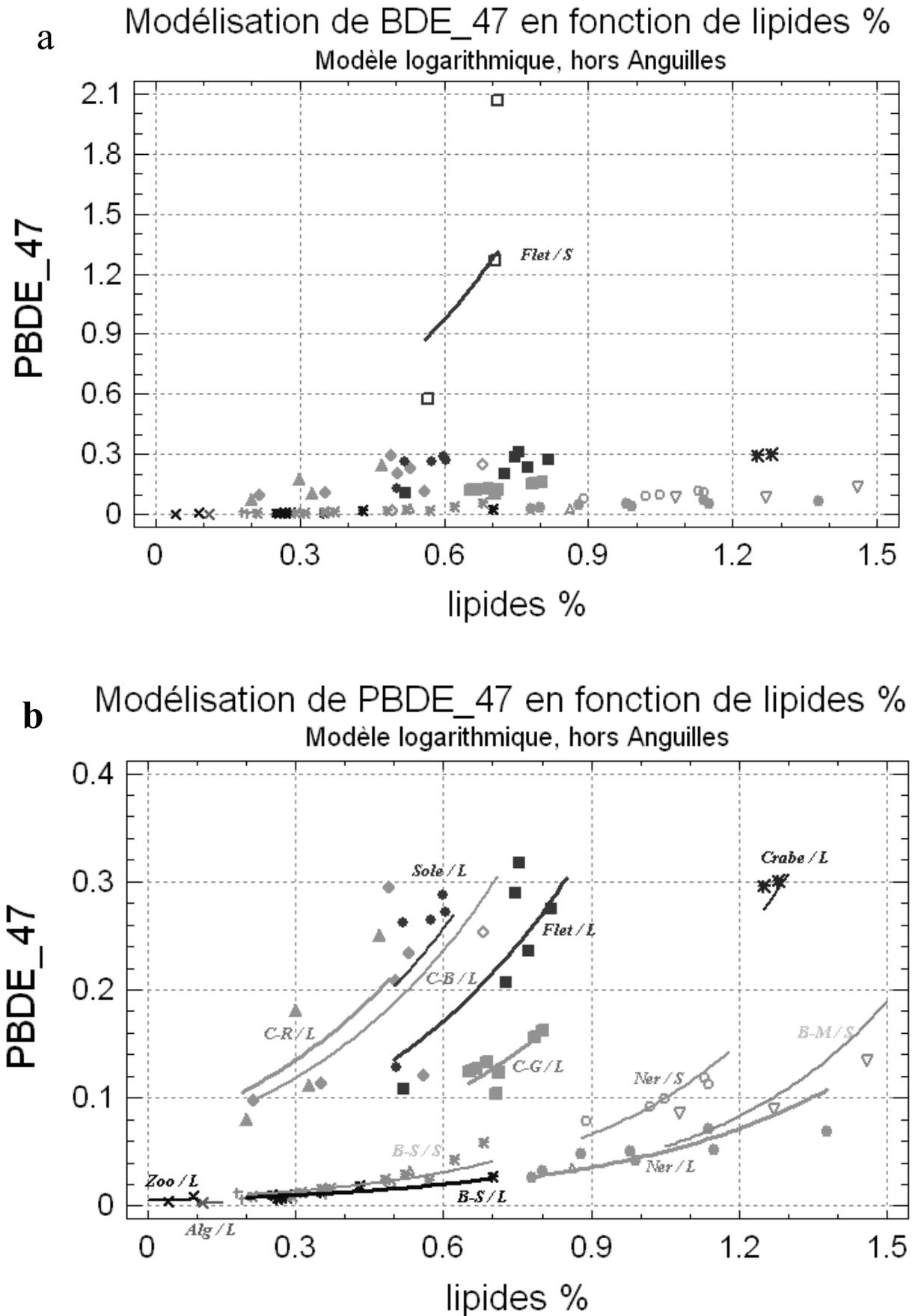
<b>Coefficients</b>	<b>Sites</b>	<b>Estimation</b>	<b>Limite inférieure</b>	<b>Limite supérieure</b>
<b>Constante</b>	Seine	-4.60701	-5.32988	-3.88413
	Loire	-4.14095	-4.50635	-3.77555
<b>B-Scrobiculaire</b>	Seine	-0.50371	-0.85637	-0.15105
	Loire	-1.13119	-1.35904	-0.90334
<b>Nereis</b>	Seine	-0.57621	-1.04883	-0.10359
	Loire	-1.25323	-1.59830	-0.90816
<b>Crevette Blanche</b>	Seine (1)	1.36642	0.77027	1.96257
	Loire	1.32216	1.09973	1.54458
<b>Flet</b>	Seine	2.93165	2.56188	3.30143
	Loire	0.99701	0.76237	1.23164

La valeur estimée de la constante de Loire est comprise dans l'intervalle de confiance de la constante de Seine et inversement : les niveaux de référence des deux sites ne sont pas significativement différents.

*1.4.3.3.iii. Visualisation de l'ajustement par les deux modèles*

Les figures 44a et b représentent la visualisation du modèle (traits pleins) par rapport aux valeurs obtenues dans l'étude.

L'ajustement est visuellement globalement satisfaisant. Seuls les flets de Seine ont des concentrations très élevées et très dispersées par rapport à l'ajustement.



**Figure 44 a et b :** Comparaison des valeurs obtenues par le modèle (—) aux valeurs obtenues dans l'étude (symboles).

La modélisation mathématique des données donne de bons résultats mais le modèle doit être adapté à chaque site et à chaque espèce. Ce travail donne uniquement une idée mathématique des données mais ne constitue en aucun cas un modèle transposable à tous les milieux et à tous les organismes. L'élaboration d'un modèle biologique permettrait d'être plus fidèle à la réalité et de prendre en compte le comportement des contaminants dans l'environnement.

#### **I.4.4. Modélisation Biologique**

Afin de vérifier la capacité d'intégration des PBDE dans un modèle qui pourrait prédire leur devenir dans les réseaux trophiques, une étude a été réalisée en se basant sur un modèle générique développé dans le cadre du projet GEMCO (Generic Estuary Modelling system to evaluate transport, fate and impact of COntaminants) par la direction de l'Environnement et de l'Aménagement du Littoral de l'IFREMER de Brest (Le Gall *et al.*, 2003). Ce projet a été mené afin de créer un modèle générique utilisé pour estimer l'exposition des espèces estuariennes aux contaminants. Le modèle détaillé ci-dessous a été élaboré pour les PCB dans l'estuaire de la Seine. Etant donné le peu de données physico-chimiques existant sur les PBDE dans l'environnement et la forte similarité existant entre les molécules de PBDE et celles de PCB, les données et équations obtenues pour les PCB ont été appliquées aux PBDE. Pour les échantillons provenant de l'estuaire de la Loire, le modèle n'a pas été modifié puisque nous n'avons pas à notre disposition de données physiques, chimiques et biologiques déjà validées par un modèle. Ce travail constitue donc une approche préliminaire et exploratoire d'une possible modélisation du comportement des PBDE dans les réseaux trophiques des poissons plats des estuaires et ne constitue en aucun cas un modèle définitif.

Les congénères qui ont été retenus afin de figurer dans le modèle sont le BDE-47 et le BDE-99. Le premier a été choisi pour son omniprésence dans tous les niveaux trophiques étudiés et le second pour sa capacité de biotransformation en BDE-47.

##### **I.4.4.1. Présentation du modèle générique :**

L'assimilation directe de substances chimiques depuis l'eau a lieu pendant la respiration. La nutrition est l'autre voie engendrant une absorption des contaminants adsorbés sur les particules (phytoplancton, bactéries, détritiques ou sédiments). Les fonctions biologiques telles que la respiration, la nutrition et la reproduction agissent sur l'assimilation et

l'élimination des contaminants. Les facteurs augmentant la bioaccumulation sont les apports à partir de l'eau et de la nourriture. Les facteurs diminuant cette bioaccumulation sont l'excrétion via les fèces et l'urine, la croissance (engendrant un phénomène de dilution), la reproduction (à travers la ponte) et la métabolisation qui sera dépendante des propriétés physico-chimiques des contaminants et des capacités de l'organisme à biotransformer les composés xénobiotiques.

L'équation de bioaccumulation du modèle GEMCO a été établie à partir du modèle de bioaccumulation des PCB dans la chaîne trophique de truites développée par Thomann et Connolly (1984) et adaptée aux chaînes trophiques de la limande (Loizeau *et al.*, 1993) et du bar (Loizeau *et al.*, 2001a, 2001b). La concentration de contaminants dans un organisme constitue un équilibre entre les processus d'assimilation et de perte. La variation de concentration d'un contaminant dans un organisme  $i$  à un temps  $t$  peut être exprimée ainsi :

$$\frac{dX_i}{dt} = (\text{assimilation par la respiration} + \text{assimilation par la nutrition}) - (\text{perte par excrétion} + \text{dilution par la croissance} + \text{reproduction} + \text{biotransformation})$$

Cette équation est valable pour chaque espèce du réseau trophique.

Dans le modèle PCB développé par Loizeau *et al.* (1993, 2001a, 2001b), la notion de biotransformation n'a pas été prise en compte car ces molécules sont très stables. Ce n'est pas le cas des PBDE puisque la débromation des molécules a déjà été évoquée. Cette étape a donc été ajoutée au modèle malgré les connaissances limitées sur la biotransformation des PBDE. Dans ces conditions d'équilibre et dans un souci de simplification, la reproduction n'a pas été introduite malgré le fait que les femelles adultes perdent généralement un taux significatif de contaminants pendant la ponte.

Il est admis que l'écosystème étudié a atteint un équilibre ( $dX_i/dt = 0$ ) et que les apports de contaminants à cet instant sont contrebalancés par les pertes. La concentration d'un contaminant (non métabolisable type PCB, CB153) dans un organisme  $i$  à un temps  $t$  est donc exprimé par la formule suivante :

$$X_i = \frac{(R * \alpha_w * X_w) + \sum (N * P_j * \beta_j * X_j)}{(E + G)}$$

Les termes de l'équation sont précisés dans le Tableau XXXVIII.

**Tableau XXXVIII :** Liste des termes utilisés dans les équations générales de bioaccumulation.

Symbole	Description	Unité
$X_i$	Concentration du contaminant dans l'organisme $i$	$\text{ng g}^{-1}$
$R$	Taux de respiration de l'organisme $i$	$j^{-1}$
$\alpha_w$	Efficacité d'assimilation du contaminant à partir de l'eau	-
$X_w$	Concentration du contaminant dans l'eau	$\text{ng l}^{-1}$
$N$	Taux de nutrition de l'organisme $i$	$j^{-1}$
$P_j$	Pourcentage de la proie $j$ dans l'alimentation de l'organisme $i$	-
$\beta_j$	Efficacité d'assimilation de la proie $j$ par l'organisme $i$	-
$X_j$	Concentration du contaminant dans la proie $j$	$\text{ng g}^{-1}$
$E$	Taux d'excrétion de l'organisme $i$	$j^{-1}$
$G$	Taux de croissance de l'organisme $i$	$j^{-1}$

#### I.4.4.2. Les variables physico-chimiques du modèle

Le modèle développé prend en compte plusieurs variables physico-chimiques du milieu. Ces données étant, comme leur nom l'indique, très variables dans le temps et dans l'espace, il est nécessaire de les forcer.

Les variables prises en compte dans le modèle, leur symbole et leur valeur par défaut sont détaillés dans le tableau XXXIX.

Il existe très peu de données sur les concentrations de PBDE dans l'eau. En effet, ces molécules étant très lipophiles, elles sont difficilement détectables dans ce milieu. Les données concernant les concentrations de BDE-47 et BDE-99 dans l'eau ont donc été établies en comparant les quelques données obtenues en parallèle sur les PBDE dans l'eau et dans les poissons (Michigan Department of Environmental Quality, 2004) et en recalculant ces valeurs par rapport aux concentrations de PBDE présentes dans les poissons de cette étude.

**Tableau XXXIX :** Liste des variables utilisées dans le modèle (d'après Le Gall *et al.*, 2003).

Type de variables	Description de la variable	Valeur	Unité
<b>FORCEES</b>	Température	14,5	°C
	Concentration en chlorophylle a	18,1	µg l <sup>-1</sup>
	Concentration en O2 dissous	5,8	ml l <sup>-1</sup>
		4,1	mg l <sup>-1</sup>
	Biomasse zooplanctonique	1,17	mg l <sup>-1</sup>
	Biomasse phytoplanctonique	2,86	mg l <sup>-1</sup>
	Concentration de lipides dans le phytoplancton	0,045	g g <sup>-1</sup>
	Fraction de carbone organique	0,021	%
	Matières particulaires en suspension	120	mg l <sup>-1</sup>
<b>FIXEES</b>	Log Kow : BDE-47	6,81	
	BDE-99	7,32	
	Concentration de BDE-47 dans l'eau		
	LOIRE	0,0005	mg l <sup>-1</sup>
	SEINE	0,00075	mg l <sup>-1</sup>
	Concentration de BDE-99 dans l'eau		
	LOIRE	0,0001	mg l <sup>-1</sup>
	SEINE	0,00015	mg l <sup>-1</sup>

Certaines variables sont également calculées à partir des variables forcées et fixées :

- Le coefficient de partition eau – particule  $K_d$  : Ce coefficient est nécessaire afin de calculer la concentration des contaminants sur les particules lorsque cette valeur n'a pas été mesurée directement. La relation développée par Munschy *et al.* (1996), pour les PCB en estuaire de Seine, et employée dans ce modèle est la suivante :

$$\text{Log } K_d = 0,75 * \text{Log } K_{ow} + 0,46$$

- La concentration dans les sédiments ( $X_{sed}$ ) : Elle est calculée à partir du  $K_d$  déterminé ci-dessus et correspond à :

$$X_{sed} = X_w * K_d$$

- La contamination du phytoplancton ( $X_p$ ) est liée au  $K_{ow}$  des contaminants (Brown *et al.*, 1982 ; Harding, 1986). Loizeau et Ménesguen (1993) ont développé une équation permettant de calculer la concentration de PCB dans le phytoplancton ( $X_p$ ) à partir

de différentes variables : la concentration du contaminant dans l'eau ( $X_w$ ), le coefficient de partage octanol-eau ( $K_{ow}$ ) et la fraction de lipides dans le phytoplancton ( $Lip$ ) :

**Tableau XL :** Equations de la concentration de PCB dans le phytoplancton en fonction des log  $K_{ow}$ .

Log $K_{ow}$	Equation de contamination du phytoplancton
$5,5 < \text{Log } K_{ow} < 7$	$\text{Log } X_p = \text{Log } X_w + 1,0339 \text{ Log } K_{ow} + \text{Log } Lip - 0,6025$
$7,1 < \text{Log } K_{ow} < 8$	$\text{Log } X_p = \text{Log } X_w - 0,9743 \text{ Log } K_{ow} + \text{Log } Lip + 13,43$

#### **I.4.4.3. Le modèle appliqué aux différents organismes d'une chaîne alimentaire**

Le choix des espèces à intégrer dans le modèle s'est fait en tenant compte du réseau trophique du flet développé dans les études Seine-Aval (Costil *et al.*, 2002) et des espèces présentes dans l'étude menée ici. Cinq groupes ont été retenus : le zooplancton, les bivalves et les polychètes intrasédimentaires contaminés par les polluants présents dans l'eau, dans le phytoplancton et dans le matériel détritique, les crevettes contaminées principalement par les polluants présents dans l'eau et dans le zooplancton et les flets contaminés par l'eau et par les espèces dont ils se nourrissent (principalement bivalves, polychètes intrasédimentaires et crevettes).

Différents paramètres entrent en compte dans le calcul du modèle : le poids des organismes ( $W_i$ ), le taux de respiration ( $R_i$ ), le taux de nutrition ( $N_i$ ), le taux d'excrétion ( $E_i$ ), le taux de croissance ( $G_i$ ), le préférendum alimentaire et la biotransformation (BIOT). Tous ces paramètres ont été soit entrés directement avec des valeurs connues, soit calculés à partir d'équations tirées de la littérature.

##### *I.4.4.3.i. Le poids des organismes ( $W$ )*

Il a été déterminé pour chaque organisme lors du traitement des échantillons et une moyenne a été calculée pour chaque espèce (tableau XLI).

**Tableau XLI :** Poids moyens des organismes employés dans le modèle.

Organismes	Poids		Unités	Référence
	LOIRE	SEINE		
<b>Zooplancton</b>	5,323	5,323	µg	Loizeau <i>et al.</i> , 2001b
<b>Bivalves</b> ( <i>S. plana</i> )	471	467	mg	
<b>Polychètes</b> ( <i>N. diversicolor</i> )	225	173	mg	
<b>Crevettes</b> ( <i>C. crangon</i> , <i>P. elegans</i> , <i>P. serratus</i> )	707	890	mg	Cette étude
<b>Flets</b> ( <i>P. flesus</i> )	274	240	g	

#### 1.4.4.3.ii. Le taux de respiration (R)

Pendant la respiration, les organismes aquatiques peuvent être contaminés par les polluants présents dans l'eau. Des études ont montré que le taux d'échange des contaminants est relié à l'apport d'oxygène (Loizeau *et al.*, 2001a ; McKim *et al.*, 1985). Les équations utilisées dans le modèle ont été détaillées dans le tableau XLII :

**Tableau XLII :** Equations décrivant les taux de respiration pour les différents organismes du modèle. {Chla} : concentration en chlorophylle a dans l'eau (mg l-1), T : temperature en °C, [Zoo] : Biomasse zooplanctonique en mg l-1, [O<sub>2</sub>] : Concentration en oxygène dissous dans l'eau (mg l-1), W<sub>x</sub> : Poids de l'organisme i en mg pour les crevettes et en g pour les flets. Afin d'obtenir des valeurs en l.g<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>, le résultat des équations a été pondéré par le taux d'oxygène dissous, le poids des organismes et le temps.

Organismes	Equations	Unités	Références
<b>Zooplancton</b>	$R1 = \frac{(0,0453*[Chla]+0,0253*T*0,137)}{[Zoo]*[O_2]}$	l.g <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Fourqurean <i>et al.</i> (1997)
<b>Bivalves</b>	$R2 = \frac{1,219*e^{0,0269*T}}{[O_2]}$	l.g <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Wilkander (1980)
<b>Polychètes</b>	$R3 = 2,71.10^{-5} * W_3 * e^{(0,037*T)}$	l.g <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Nichlos (1975)
<b>Crevettes</b>	$R4 = \frac{109,6*W4^{-0,758}}{[O_2]}$	l.g <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Vasblom et Elgershuizen (1997)
<b>Flets</b>	$R5 = \frac{10^{10,63*T-0,5415*W5^{-5,032}}}{[O_2]}$	l.g <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup>	Paul <i>et al.</i> (1990)

Le taux de respiration décrit la contribution de la respiration dans la contamination des espèces. La contribution de la respiration dans le processus de contamination dépend de la concentration en contaminants dans l'eau (X<sub>w</sub>) et du coefficient d'assimilation dans l'eau (α<sub>w</sub>) lié à l'hydrophobie du contaminant. Pour les PCB, si 4,5 < Log Kow < 6,25 alors α<sub>w</sub> = 0,6 et si 6,25 < log Kow < 10 alors log α<sub>w</sub> = -0.0864 (logKow)<sup>2</sup>+0.8374 log Kow -2.2118 (Thomann *et al.*, 1992).

I.4.4.3.iii. Le taux de nutrition (N)

L'alimentation est la principale source de contamination pour les polluants hydrophobes. La contamination du prédateur va dépendre de son taux de nutrition.

L'assimilation est le processus à travers lequel la nourriture et les contaminants passent de l'estomac aux tissus. Elle semble liée à la fois aux capacités de digestion de la nourriture par le prédateur et à la qualité de la nourriture. Cependant, elle peut également dépendre d'autres facteurs tel que l'état de la proie (morte ou vivante). Il s'agit donc de données très complexes à obtenir.

Des équations différentes ont été obtenues dans la littérature afin de calculer le taux de nutrition dans différents organismes (tableau XLIII).

**Tableau XLIII :** Equations employées pour calculer les taux de nutrition dans le modèle. [Chla] : concentration en chlorophylle a dans l'eau ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), T : température en  $^{\circ}\text{C}$ , [Zoo] : Biomasse zooplanctonique en  $\text{mg l}^{-1}$ , [Phyto] : Biomasse phytoplanctonique en  $\text{mg l}^{-1}$ , [POM] : Concentration de matières organiques particulaires dans l'eau en  $\text{mg l}^{-1}$ ,  $W_x$  : Poids de l'organisme i en g. Afin d'obtenir des valeurs en  $\text{j}^{-1}$ , le résultat des équations a été pondéré par le poids des organismes et le temps.

Organismes	Equations	Unités	Références
Zooplancton	$N1 = \frac{0,024*(3,197*[Chla]-1)}{[Zoo]}$	$\text{j}^{-1}$	Hansen <i>et al.</i> (1995)
Bivalves	$N2 = 0,2736*[Phyto]+0,132*[POM]+3,504$	$\text{j}^{-1}$	Hughes et Morgan (1973)
Polychètes	$\text{Ln}(N3) = 0,768\text{Ln}(POM) + 0,563\text{Ln}(W3) + 0,1002$	$\text{mg.ind}^{-1}.\text{h}^{-1}$	Brunswig (1973)
Crevettes	$N4 = 0,495*e^{(0,0875*T-0,0434)}$	$\text{j}^{-1}$	Aaser <i>et al.</i> (1995)
Flets	$N5 = W5^{1,536}*10^{0,0014*T}*3,048*10^{-3}$	$\text{j}^{-1}$	Pandian (1970)

Le calcul du coefficient d'assimilation depuis la proie ( $\beta$ ) a été réalisé en prenant pour modèle une étude de Loizeau *et al.* (2001b) sur le modèle « bar ». Ainsi :

- si  $6 \leq \log Kow < 7$  alors  $\beta = 0,65$
- si  $4,5 < \log Kow < 6,5$  alors  $\beta = 0,5$
- si  $\log Kow > 7$  alors  $\beta = 0,55$

Le coefficient d'assimilation depuis la matière détritique ( $\beta_2$ ) a été fixé à 0,35.

I.4.4.3.iv. Taux d'excrétion (E)

Dans ce modèle, l'excrétion se situe dans la catégorie des pertes de contaminants après assimilation. On considère que le polluant est éliminé de l'organisme sans subir de modification chimique. Les équations décrivant ce processus sont détaillées ci-dessous (tableau XLIV) :

**Tableau XLIV :** Equations employées pour calculer les taux d'excrétions des différents organismes. [Chla] : concentration en chlorophylle a dans l'eau ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), [Zoo] : Biomasse zooplanctonique en  $\text{mg l}^{-1}$ ,  $W_x$  : Poids de l'organisme i en g, T : temperature en  $^{\circ}\text{C}$  et N5 : Taux de nutrition du flet. Afin d'obtenir des valeurs en  $\text{j}^{-1}$ , le résultat des équations a été pondéré par le poids des organismes et le temps.

Organismes	Equations	Unités	Références
Zooplankton	$E1 = \frac{0,199}{[\text{Chla}] * [\text{Zoo}]}$	$\text{j}^{-1}$	Durbin et Durbin (1978)
Bivalves	$\text{Ln}E2 = 0,799 * \text{Ln}W2 - 2,352$	$\text{j}^{-1}$	Salzwedel (1980)
Polychètes	$\text{Log}(E3) = 0.1 + \text{Log}(W_3 * 0.001)$	$\text{j}^{-1}$	Brunswig, 1973
Crevettes	$E4 = 0,0985 * e^{(0,031 * T - 0,19)}$	$\text{j}^{-1}$	Aaser <i>et al.</i> (1995)
Flets	$E5 = 0,168 * N5 + 0,0035 * T + 0,965$	$\text{j}^{-1}$	Pandian (1970)

I.4.4.3.v. Taux de croissance (G)

La croissance est à l'origine d'un phénomène de dilution des contaminants dans les organismes. Elle peut donc être assimilée à une perte de contaminant dans le modèle. Ces pertes sont proportionnelles aux taux de croissance et ont été établies à partir des relations taille-poids et âge-poids décrits dans la littérature (Le Gall *et al.*, 2003) (tableaux XLV) :

**Tableau XLV :** Valeurs inspirées de la littérature et utilisées dans le modèle comme taux de croissance.

Organismes	Equations	Unités	Références
Zooplancton	$G1 = 0,278$	$j^{-1}$	Vidal (1980)
Bivalves	$G2 = 0,0156$	$j^{-1}$	Salzwedel (1980)
Polychètes	$G3 = 0,035$	$j^{-1}$	Nichols, 1978
Crevettes	$G4 = 0,249$	$j^{-1}$	Irvine <i>et al.</i> (1995) ; Mees <i>et al.</i> (1994)
Flets	$G5 = 0,028$	$j^{-1}$	Pandian (1970)

#### *1.4.4.3.vi. Preferendum alimentaire*

Le modèle développé dans le projet GEMCO a mis en évidence les preferendums alimentaires suivant :

- L'alimentation du zooplancton, des bivalves et des polychètes est constituée de 50% de matière détritique et de 50% de phytoplancton.
- L'alimentation des crevettes est constituée de 100% de zooplancton.

En ce qui concerne les flets, l'étude de Marchand *et al.* (1977) a montré la présence de sédiment dans les estomacs d'environ 50% des individus étudiés en plus des bivalves, polychètes et crevettes. Les preferendums alimentaires pour les flets ont donc pris en compte tous ces facteurs et ont permis d'obtenir les valeurs suivantes : 36% de polychètes, 29% de sédiment, 19% de crevettes et 16% de bivalves.

#### *1.4.4.3.vii. Biotransformation*

La biotransformation est un processus selon lequel les contaminants assimilés par les organismes subissent une transformation via des réactions enzymatiques. Les métabolites sont généralement moins hydrophobes et sont plus facilement éliminés.

Le modèle PCB développé dans le projet GEMCO ne prenait pas en compte la notion de biotransformation car ces molécules sont très stables ; toutefois, ce processus a été introduit dans le modèle pour simuler le devenir de quelques HAP dans les organismes. Les PBDE réagissent autrement puisque plusieurs études *in vitro* ont montré leurs capacités de débromation (Norris *et al.*, 1973, 1975a ; Watanabe et Tatsukawa, 1987 ; Sellström *et al.*, 1998b ; Tysklind *et al.*, 2001 ; Söderström *et al.*, 2004). Cependant, il existe peu de données *in*

vivo sur la biotransformation des PBDE. Récemment, Stapleton *et al.* (2004a , 2004c) ont étudié la débromation des congénères de BDE-99 et BDE-183 dans le tractus digestif de la carpe après une exposition via la nourriture. Les auteurs ont mis en évidence un phénomène de débromation du BDE-99 en BDE-47 et du BDE-183 en différents hexa-BDE notamment en BDE-154. Concernant le BDE-99 qui nous intéresse particulièrement, environ 9,5% de ce congénère est débromé en BDE-47 (Stapleton *et al.*, 2004a). Un taux de biotransformation de 0,095 a donc été appliqué au BDE-99 et les différences entre les valeurs non biotransformées et les valeurs biotransformées ont été ajoutées aux concentrations obtenues pour le BDE-47.

#### 1.4.4.3.viii. Calcul de la concentration

Tous les paramètres décrits précédemment vont entrer dans une équation afin de calculer les concentrations des différents PBDE dans chaque organisme étudié :

Pour le zooplancton :

$$X_{zoo} = \frac{(R_{zoo} * \alpha_w * X_w) + N_{zoo} * ((P_p * \beta * X_p) + (P_d * \beta_2 * X_{sed}))}{(E_{zoo} + G_{zoo})} * (1 - BIOT)$$

Pour les bivalves

$$X_b = \frac{(R_b * \alpha_w * X_w) + N_b * ((P_p * \beta * X_p) + (P_d * \beta_2 * X_{sed}))}{(E_b + G_b)} * (1 - BIOT)$$

Pour les polychètes intrasédimentaires

$$X_{ver} = \frac{(R_{ver} * \alpha_w * X_w) + N_{ver} * ((P_p * \beta * X_p) + (P_d * \beta_2 * X_{sed}))}{(E_{ver} + G_{ver})} * (1 - BIOT)$$

Pour les crevettes

$$X_c = \frac{(R_c * \alpha_w * X_w) + N_c * (P_{zoo} * \beta * X_{zoo})}{(E_c + G_c)} * (1 - BIOT)$$

Pour les flets

$$X_f = \frac{(R_f * \alpha_w * X_w) + N_f * ((P_b * \beta * X_b) + (P_{ver} * \beta * X_{ver}) + (P_c * \beta * X_c) + (P_d * \beta_2 * X_{sed}))}{(E_f + G_f)} * (1 - BIOT)$$

Zoo : zooplancton, b : bivalve, ver : polychète intrasédimentaire, c : crevette, f : flet, p : phytoplancton, d : matière détritique,  $X_i$  : concentration dans l'organisme  $i$ ,  $R_i$  : taux de respiration de l'organisme  $i$ ,  $\alpha_w$  : efficacité d'assimilation du contaminant depuis l'eau,  $N_i$  : taux de nutrition de l'organisme  $i$ ,  $P_i$  : pourcentage de la proie  $i$  dans l'alimentation du prédateur,  $\beta$  : efficacité d'assimilation de la proie  $i$  par le prédateur,  $\beta_2$  : efficacité

d'assimilation de la matière détritique par le prédateur,  $E_i$  : taux d'excrétion de l'organisme  $i$ ,  $G_i$  : taux de croissance de l'organisme  $i$ , BIOT : coefficient de biotransformation.

Tous les détails de l'analyse sont présentés en annexe 9.

#### I.4.4.4. Application du modèle aux PBDE

Les premières valeurs obtenues par modélisation sont celles de la concentration de BDE-47 et BDE-99 dans les sédiments. Ces différentes valeurs ainsi que celles obtenues sur le terrain sont représentées dans le tableau XLVI.

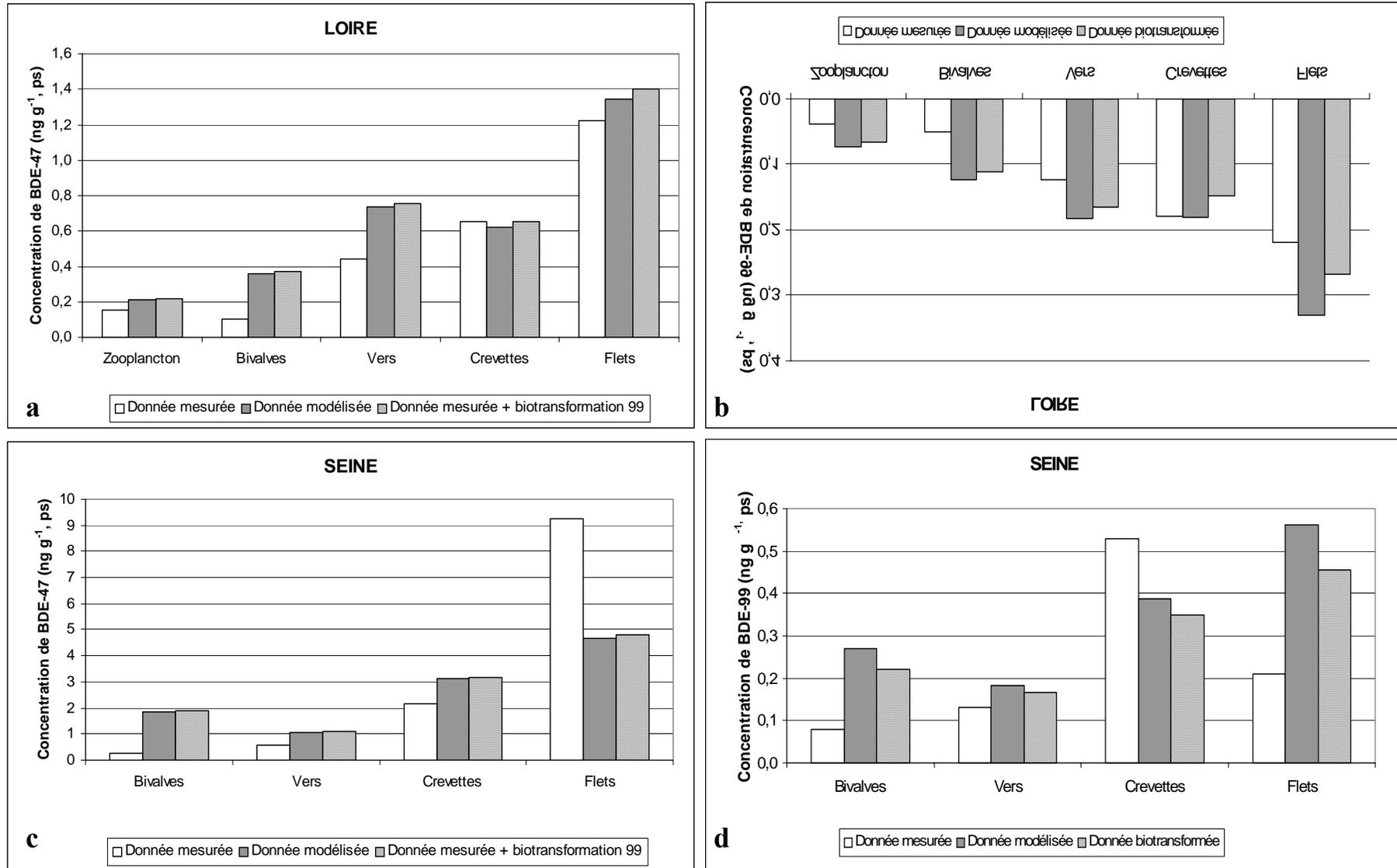
**Tableau XLVI :** Concentrations en BDE-47 et en BDE-99 obtenues en Loire et en Seine dans cette étude et par modélisation

	BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , ps)		BDE-99 (ng g <sup>-1</sup> , ps)	
	LOIRE	SEINE	LOIRE	SEINE
Donnée de l'étude	0,24	0,55	0,20	0,20
Donnée modélisée	0,18	0,48	0,09	0,13

Les valeurs obtenues dans les sédiments par modélisation sont proches de celles obtenues par dosage, en particulier pour le BDE-47. Le modèle développé semble donc en accord avec les résultats obtenus dans la présente étude sur le sédiment.

Les valeurs mesurées, prédites sans biotransformation et prédites avec biotransformation dans les différentes espèces étudiées ont été détaillées dans la figure 45 (a, b, c et d).

Afin de ne pas entraîner une sous-estimation des concentrations en BDE-47 et BDE-99 dans les organismes, lorsque la valeur obtenue était inférieure à la limite de quantification, au lieu de considérer la valeur comme nulle, la valeur de la limite de quantification a été choisie.



**Figure 45 a, b, c et d :** Concentrations de BDE-47 et BDE-99 mesurées dans différentes espèces de Loire (a et b) et de Seine (c et d) en comparaison avec les valeurs prédites par le modèle avec et sans biotransformation.

Concernant le BDE-47 et le BDE-99 en Loire ou en Seine, les valeurs mesurées dans le zooplancton, les bivalves ou les polychètes sont toujours inférieures aux valeurs prédites. Par contre, les concentrations mesurées dans les flets sont supérieures aux valeurs du modèle pour le BDE-47 alors qu'elles sont inférieures pour le BDE-99. Les concentrations de BDE-47 mesurées dans les crevettes en Loire et Seine sont similaires aux valeurs prédites notamment celles intégrant la notion de biotransformation. Pour le BDE-99, les résultats sont différents puisque les valeurs mesurées sont égales aux valeurs prédites en Loire alors qu'elles sont supérieures aux valeurs prédites en Seine. L'introduction de la biotransformation dans le modèle permet, dans quelques organismes, de se rapprocher des valeurs mesurées. Cependant, les différences de concentrations entre les valeurs modélisées et mesurées sont faibles et montrent que le modèle proposé donne de bons résultats.

## **I.5. Effets des PBDE sur les organismes**

Les effets des PBDE sur les individus sont nombreux puisqu'ils peuvent perturber à la fois le système endocrinien et l'équilibre neurologique mais également les fonctions du foie (De Wit, 2000). Aucune étude n'a encore été réalisée sur l'impact de la concentration en PBDE dans l'environnement sur les génotypes des individus. Une étude totalement originale a donc été menée en collaboration avec le Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin de Brest afin de déterminer l'influence des taux de contaminants organiques sur les profils génotypiques de flets.

### **I.5.1. Influence des contaminants présents dans l'environnement sur le profil génotypique des flets (*P. flesus*) de Seine et de Loire.**

L'exposition à des contaminants chimiques peut provoquer des modifications directes du matériel génétique des individus, par des dommages à l'ADN (génotoxicité mesurée par l'évaluation des cassures de brins d'ADN, des aberrations chromosomiques, par la formation de micro-noyaux,...), ou des modifications indirectes par des phénomènes de dérive génétique ou de sélection de certains génotypes dits « résistants » (Bickham *et al.*, 2000 ; Theodorakis *et al.*, 2000). Les modifications des fréquences alléliques (allèles = différentes formes possibles d'un gène) ou génotypiques (génotype = identification pour un gène particulier, observé sur un individu, des deux allèles paternel et maternel) dans une population soumise à la pollution pourraient à moyen terme réduire ses capacités d'adaptation à de nouveaux environnements

(Marchand *et al.*, 2003) et conduire à une augmentation de sa probabilité d'extinction à long terme (Laroche *et al.*, 2002).

Rappelons ici pour mémoire qu'un génotype qualifié d'homozygote présente deux allèles identiques (paternel = maternel), alors qu'un génotype hétérozygote offre quant à lui deux allèles différents (paternel différent de maternel).

Des études menées en laboratoire ont montré que la tolérance des organismes à certains contaminants pouvait varier selon les génotypes qui peuvent donc présenter des mortalités différentielles (Gillespie et Guttman, 1993 ; Schlueter et al, 1997). La sélection s'exerçant sur ces génotypes « résistants », au sein de populations naturelles en condition de stress chronique, peut conduire à une augmentation de leur fréquence ; ce phénomène ayant été notamment décrit pour différentes populations de poissons d'eau douce, en environnements industriels (Heithaus et Laushman, 1997 ; Larno *et al.*, 2001).

Des investigations sur le flet, sur différents estuaires contaminés de la façade atlantique française, ont permis d'identifier des génotypes particuliers présentant des caractères de « résistance » à la contamination chimique (Laroche *et al.*, 2002 ; Marchand *et al.*, 2003). La « résistance » des individus portant ces génotypes est essentiellement identifiée par le maintien d'une forte intégrité de leur ADN au niveau des cellules sanguines ; les autres génotypes présentant globalement des altérations de l'ADN significatives. Des tendances similaires ont été observées sur des populations de poissons contaminés en eau douce (Larno *et al.* 2002), où la fréquence des génotypes associés à une bonne intégrité de l'ADN augmente parallèlement avec l'accroissement de la contamination chimique sur l'ensemble du bassin du Rhône. Les individus porteurs de ces génotypes ont donc été considérés comme « tolérants » aux polluants.

Afin d'évaluer s'il existe des bioaccumulations différentielles possibles de contaminants associées aux génotypes chez le flet, une étude préliminaire a été menée en collaboration avec le laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin de Brest (UMR 6539) qui s'est chargé des analyses génétiques. Des profils génotypiques et des concentrations individuelles en contaminants ont été évalués chez des flets (*Platichthys flesus*) provenant des estuaires de Loire et de Seine. Différents contaminants ont été dosés :

- Des contaminants minéraux : cadmium, chrome, cuivre, nickel, plomb, zinc, cobalt, fer, molybdène, aluminium, manganèse, bore, arsenic, sélénium, étain, baryum, antimoine, argent et mercure.

- Des contaminants organiques : PCB-28, -52, -101, -118, -138, -153, -180 et BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154, -209.

En parallèle, et sur les mêmes individus, des extraits de muscles ont été préparés afin d'étudier différents loci (emplacement d'un gène sur le chromosome) de type allozymes (expression du gène : protéine enzymatique) obtenus par migration sur gel d'amidon suivant Borsa *et al.* (1997) (tableau XLVII).

**Tableau XLVII :** Récapitulatif des locus étudiés, et de leurs fonctions (Weil, 2001).

<b>Locus</b>	<b>Nom complet du locus</b>	<b>Fonction</b>
AAT-1 AAT-2	Aspartate Amino Transférase	métabolisme général
IDH	Isocitrate Deshydrogénase	
PGM	PhosphoGlucoMutase Métabolisme énergétique	IDH : métabolisme général
PGI	PhosphoGlucose Isomérase Métabolisme énergétique	

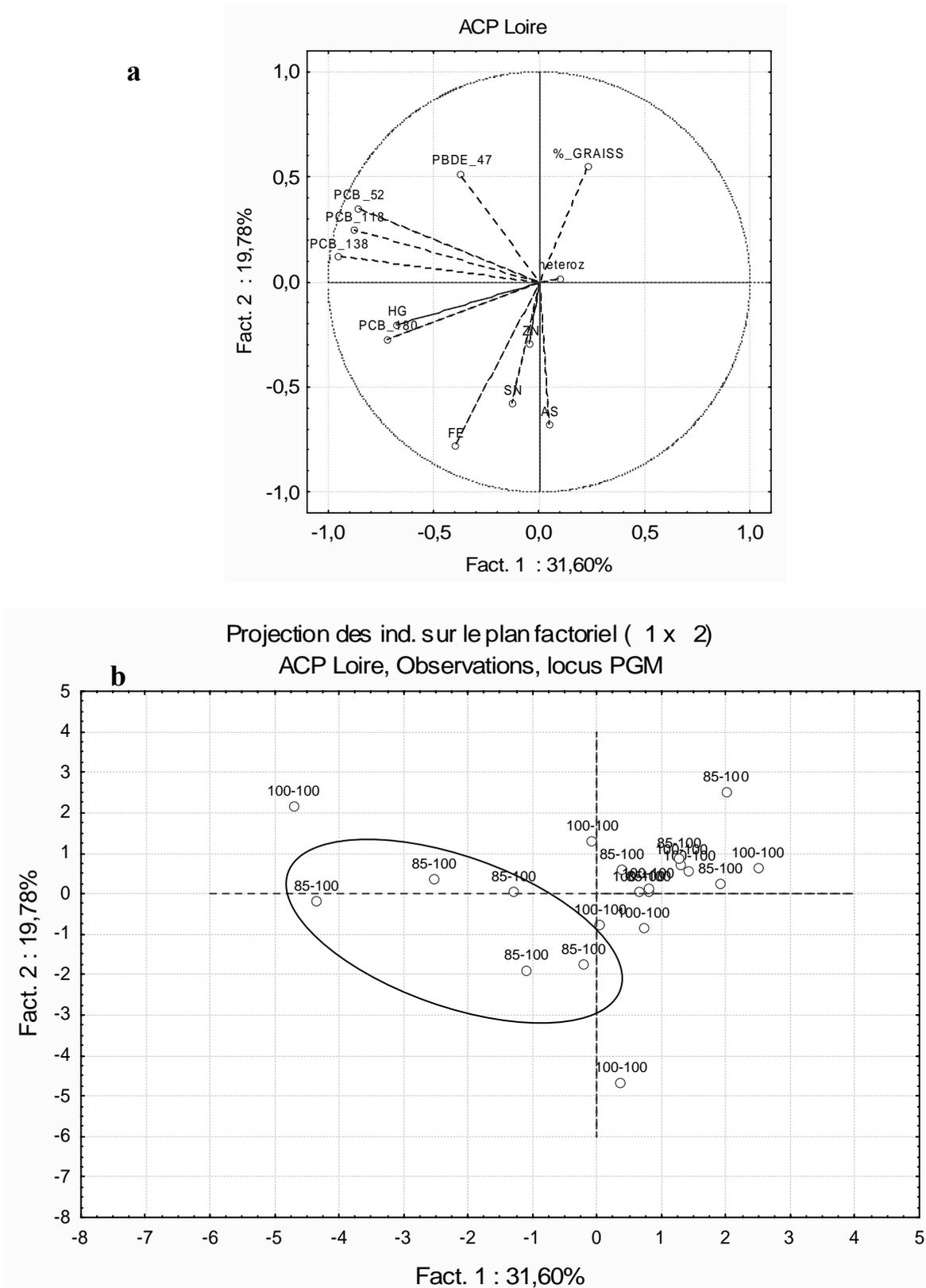
Afin d'éviter d'introduire trop de variabilité entre les individus, tous les flets choisis dans cette étude étaient des femelles arrivées à maturation sexuelle.

Les fréquences des allèles observés par locus ont été détaillées dans le tableau XLVIII :

**Tableau XLVIII :** Fréquence allélique dans les deux populations de flets en estuaires..

<b>Locus</b>	<b>Allèle</b>	<b>Loire</b>	<b>Seine</b>
AAT-1	95	0,050	0,150
	100	0,925	0,850
	110	0,025	0
AAT-2	90	0,025	0
	100	0,950	1
	110	0,025	0
IDH	90	0	0,050
	100	0,950	0,950
	110	0,050	0
PGM	85	0,250	0,125
	100	0,750	0,875
PGI	90	0,025	0,200
	100	0,950	0,800
	110	0,025	0

Les couplages possibles entre les variables génotypiques et les variables chimiques ont été explorés par des analyses en composantes principales (figures 46 et 47).



**Figure 46 :** Analyse en Composantes Principales sur les flets de la Loire ; 100-100 : individu homozygote présentant 2 fois l'allèle 100; 85-100 : individu hétérozygote à 2 allèles différents : 85 & 100.  
(a) Distribution des variables quantitatives sur le plan principal (variables chimiques).  
(b) Distribution des individus (variables qualitatives = génotypes) pour le locus PGM.

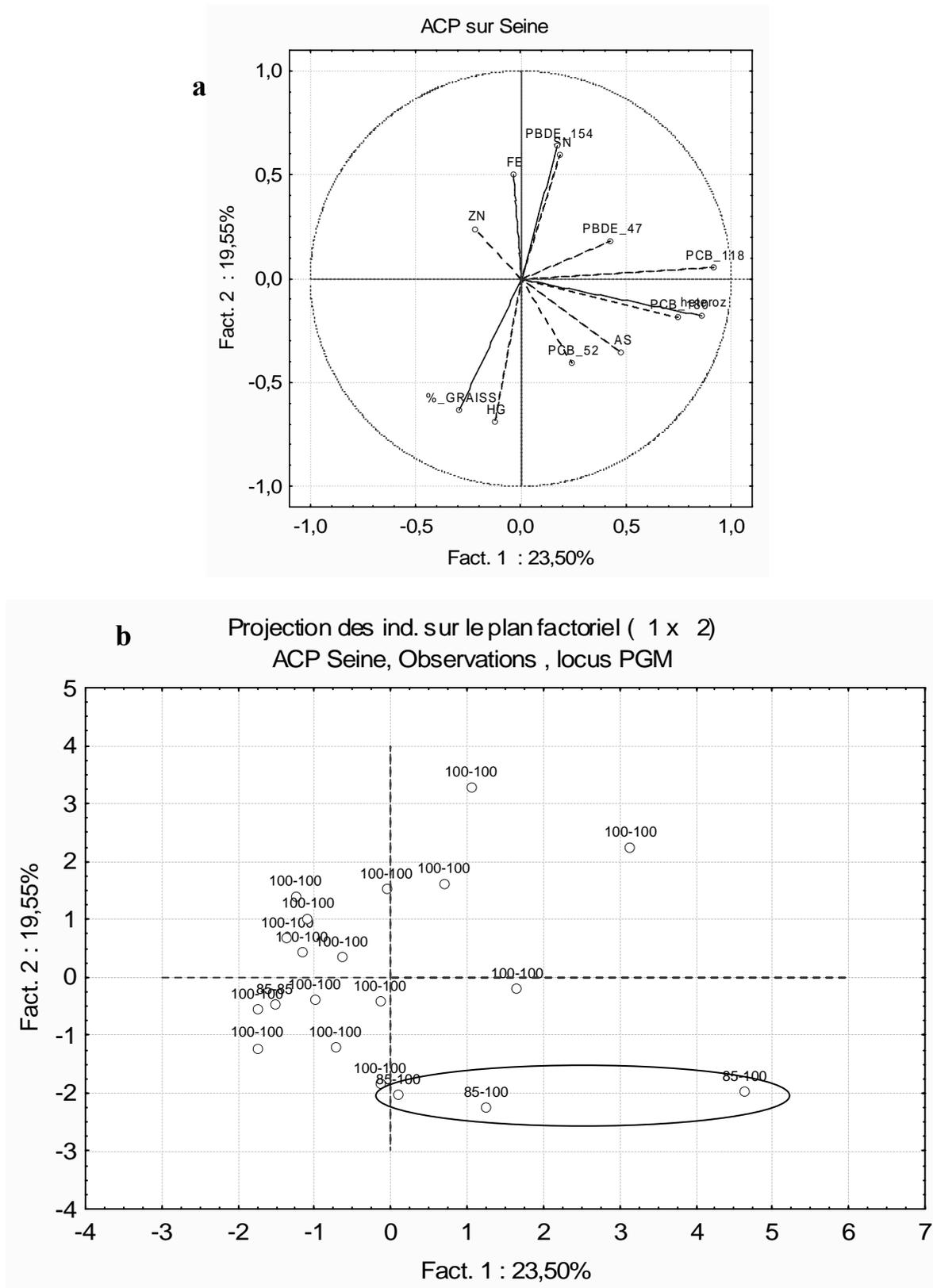
Les métriques chimiques et génétiques prises en compte dans l'analyse factorielle sur l'estuaire de la Loire étaient les suivantes :

- le pourcentage de graisse
- l'hétérozygotie individuelle (nombre de loci à l'état hétérozygote)
- Zn, Fe, As, Sn, Hg (les autres métaux étaient fortement corrélés à ceux-ci et auraient créé une redondance déséquilibrant le jeu de données)
- PCB-52, -118, -132 et -180 (les autres PCB étaient fortement corrélés à ceux-ci et donc redondants)
- PBDE-47 (les autres PBDE étaient fortement corrélés à celui-ci et donc redondants)
- Seul le locus PGM a pu être ici analysé; les autres loci présentant une variabilité génétique insuffisante (hétérozygotie très faible) ne permettent pas d'explorer de possibles couplages entre géotypes et charges en polluant.

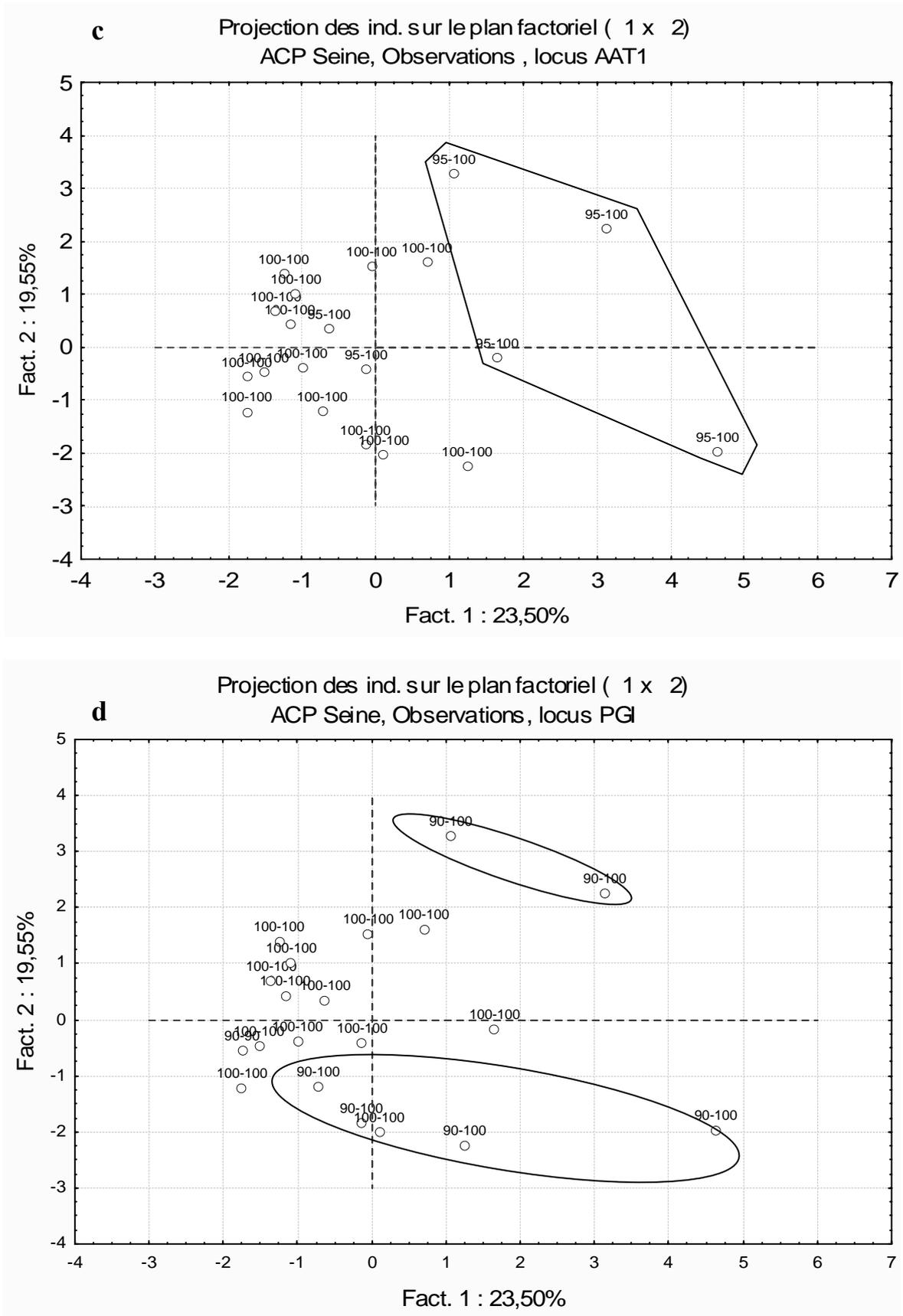
Plus de 51% de la variance est expliquée par le plan principal (Figure 46 : axe 1 & 2), qui paraît donc résumer correctement la variance exprimée dans la matrice de données.

Sur la figure 46a une corrélation inverse peut être observée entre la teneur en graisse et les teneurs en Fe, Sn et As. L'hétérozygotie n'est pas un facteur structurant de la bioaccumulation. Les PCB sont relativement corrélés avec le mercure mais pas avec la teneur en graisse, ni avec les autres métaux. La bioaccumulation en BDE-47 est peu corrélée avec celle des PCB.

En ce qui concerne l'étude du locus PGM (figure 46b), les hétérozygotes PGM 85/100 sont globalement localisés sur le côté gauche du plan factoriel et sont donc associés à un niveau de contamination relativement important en Hg et PCB. L'essentiel des homozygotes PGM 100/100 situés sur le côté droit du plan présente donc des charges en contaminants relativement faibles.



**Figure 47 (a et b):** Analyse en Composante Principale pour les flets de l'estuaire de la Seine. Projection des variables chimiques (a)  
Projections des génotypes pour le locus PGM (b).



**Figure 46 (c et d) :** Analyse en Composante Principale pour les flets de l'estuaire de la Seine. Projection des individus pour les loci AAT-1 (c) et PGI (d).

Les métriques chimiques et génétiques prises en compte dans l'analyse factorielle sur l'estuaire de la Seine étaient les suivantes :

- le pourcentage de graisse
- l'hétérozygotie individuelle (nombre de loci à l'état hétérozygote)
- Zn, Fe, As, Sn, Hg (les autres métaux étaient fortement corrélés à ceux-ci et donc redondants)
- PCB-52, -118, et -180 (les autres PCB étaient fortement corrélés à ceux-ci et donc redondants)
- BDE-47 et -154 (les autres PBDE étaient fortement corrélés à ceux-ci et donc redondants)
- seuls les loci PGM, AAT 1 et PGI ont été analysés, l'autre locus IDH ne présentant pas une variabilité génétique suffisante.

43% de la variance totale est expliquée par le plan principal (axe 1, axe 2), qui exprime donc une partie conséquente de la variabilité de la matrice de données.

La figure 47a indique une corrélation inverse entre les teneurs en mercure et en graisse par rapport aux concentrations en BDE-154, Sn et Fe. Les PCB, le BDE-47 et l'hétérozygotie ne sont pas corrélés avec les éléments précités. Les animaux hétérozygotes accumulent apparemment plus de PCB et dans une moindre mesure plus de BDE-47.

La figure 47b représente une projection des individus de Seine sur le plan factoriel pour le locus PGM. Les hétérozygotes PGM 85/100 sont tous localisés dans la partie basse du diagramme. Ces hétérozygotes seraient associés à des teneurs vraisemblablement assez conséquentes en Hg, As et PCB. Une bioaccumulation préférentielle est donc soupçonnée pour ces génotypes par rapport aux homozygotes PGM 100/100. Ces résultats sont assez similaires à ceux obtenus en Loire pour le même locus.

La figure 47c représente une projection des individus de Seine sur le plan factoriel pour le locus AAT-1. Les hétérozygotes AAT-1 95/100 sont globalement localisés dans la partie droite du diagramme. Ils seraient donc associés à des concentrations en contaminants organiques (PCB et PBDE) généralement plus fortes que les homozygotes AAT-1 100/100.

La figure 47d représente une projection des individus de Seine sur le plan factoriel pour le locus PGI. Aucune tendance nette sur la bioaccumulation différentielle n'est observée chez les hétérozygotes PGI 90/100 par rapport aux homozygotes PGI 100/100; certains

hétérozygotes présentant cependant des concentrations relativement fortes en PBDE, Sn ou en PCB, Hg, As.

Des modifications de fréquences alléliques pour les loci PGM, PGI et AAT-1 ont été observées dans les populations de flets échantillonnées dans les estuaires contaminés (Seine et Loire) par rapport à une population de référence peu impactée par le stress chimique : Ster de Lesconil (Laroche et al 2002). Les génotypes PGM 85/85 et PGM 85/100 présentent généralement une bonne intégrité de leur ADN dans les milieux pollués qui est vraisemblablement liée à leur capacité à mieux protéger et/ou réparer leur ADN, par rapport aux autres génotypes du locus PGM. Les poissons portant les génotypes PGM 85/85 et PGM 85/100 pourraient donc être considérés comme étant plus « tolérants » aux polluants ; la fréquence de l'allèle PGM 85 étant plus élevée dans les flets des sites contaminés.

Sur un jeu de données plus extensif (Loire, Seine, Vilaine, Gironde comparés au Ster), Marchand et al (2003) ont confirmé le caractère de « résistance » des poissons porteurs de l'allèle PGM 85 vis à vis de la génotoxicité des polluants chimiques ; un résultat similaire étant aussi clairement observé pour les individus porteurs de l'allèle AAT-1 95.

Les couplages génotypes-charges en polluants obtenus ici confirment sur la Loire et la Seine que les animaux hétérozygotes PGM 85/100 qui présentent donc un caractère de « résistance » au stress chimique sont clairement associés à de plus fortes concentrations en contaminants considérés comme très toxiques (PCB et aussi Hg), par rapport aux homozygotes PGM 100/100. On remarque aussi dans cette étude que les autres hétérozygotes associés également à une certaine forme de « résistance » par rapport au stress chimique AAT-1 95/100 présentent aussi des concentrations plus élevées en PCB et PBDE par rapport aux homozygotes AAT-1 100/100, sur l'estuaire de la Seine.

Les génotypes associés à la résistance à la génotoxicité dans les estuaires contaminés seraient donc capables de supporter de plus fortes concentrations en contaminants (essentiellement de type PCB, voire en certains métaux). La résistance semble donc aussi se matérialiser par une bioaccumulation plus forte de certains contaminants par ces génotypes. On remarque de plus que dans l'estuaire de la Seine :

- 1) les poissons les plus hétérozygotes (en considérant tous les loci) sont considérés comme présentant un possible avantage sélectif de part leur capacité à maintenir l'intégrité de leur ADN (Laroche et al, 2002),

- 2) l'hétérozygotie multilocus est dans notre étude fortement corrélée avec les teneurs en PCB et confirme donc la tendance détectée pour certains locus (PGM & AAT-1).

**A travers ces premiers résultats exploratoires sur les relations possibles entre la variabilité génétique et la concentration en polluants dans les organismes, il apparaît donc clairement que les génotypes expriment des capacités différentielles à bioaccumuler les familles de polluants au sein des populations soumises à des contaminations chroniques.**

**Les résultats majeurs issus de ce travail de recherche peuvent être résumés ainsi :**

- **Tout d'abord la présente étude n'a pas mis en évidence de contamination marquée des sédiments et du biota par les triazines et les PBB dans les estuaires de Loire et de Seine. En revanche, la présence des PBDE dans ces mêmes estuaires a été nettement démontrée. Le BDE-47 était le congénère majoritaire dans tous les échantillons biologiques alors que le BDE-209 était majoritaire dans les sédiments.**
- **La bioaccumulation des PBDE a été montrée dans tous les organismes étudiés et mais n'a pu être mise en relation avec l'âge des individus que chez les anguilles de Seine. Il n'existait pas de site de stockage privilégié des PBDE dans les soles entre le muscle et le foie alors qu'un stockage légèrement plus important de ces contaminants a été observé dans les foies de flets. Le foie ne serait pas le lieu de stockage privilégié des PBDE dans les anguilles.**
- **La biomagnification du congénère majoritaire, le BDE-47, a pu être mise en évidence dans les chaînes alimentaires des estuaires de Loire et de Seine.**
- **La modélisation biologique du devenir des BDE-47 et -99 dans les réseaux trophiques de poissons plats donne de bons résultats en accord avec les valeurs obtenues dans nos échantillons et semble bien refléter le comportement de ces contaminants dans les environnements étudiés.**
- **La présence dans le milieu aquatique de contaminants organiques peut exercer une pression sélective sur les populations de flets et les génotypes « résistants » semblent exprimer une bioaccumulation plus forte de contaminants tels que les PCB et les PBDE.**



**IV**

**DISCUSSION**



L'absence de PBB, la faible présence de triazines et l'omniprésence des PBDE ont donc été mises en évidence dans les environnements français étudiés. Cependant, afin d'avoir une idée objective du niveau de contamination des estuaires étudiés, il était nécessaire de réaliser une comparaison par rapport aux niveaux détectés dans les études du monde entier.

La présence des PBDE dans les estuaires étudiés est la conséquence d'apports indirects puisque aucune usine ne fabrique ce type de produits en France. Les retardateurs de flamme utilisés dans l'industrie étant composés d'un mélange de congénères, l'étude des profils de congénères obtenus permettra de tenter de rechercher l'origine de ces apports en PBDE.

La présence dans cette étude de nombreuses espèces comestibles a posé le problème d'une éventuelle contamination de l'homme par la nourriture. Quelle est la part de contaminants apportée par la consommation régulière de ces espèces ? Quels sont les risques engendrés par une telle consommation ? Les consommateurs français sont-ils soumis à un risque potentiel ?

Les contaminants lipophiles semblent être capables d'avoir un impact sur les populations vivant dans des milieux contaminés en exerçant une pression sélective sur celles-ci. Les conséquences écologiques induites par ceux-ci dans les estuaires ont donc été étudiées.

## **I.1. Les niveaux de triazines et de PBB dans l'étude**

### **I.1.1. Les triazines**

En dépit de la persistance non négligeable des triazines dans l'eau - dans les eaux de surface et souterraines, la demi-vie de l'atrazine est estimée à plus d'un an (Tronczynski *et al.*, 1999) et celle de la simazine peut atteindre 176 jours (Strandberg et Scott-Fordsmand, 2002) - la littérature ne fait état que de très peu de travaux sur la présence des triazines dans l'environnement aquatique. Perez-Ruzafa *et al.* (2000) ont étudié ces molécules dans différents compartiments trophiques d'une lagune espagnole mais ne les ont trouvées que dans quelques sédiments prélevés dans des affluents de la lagune à des concentrations très faibles (entre 0,1 et 1 ng g<sup>-1</sup>, ps). Gfrerer *et al.* (2002) ont étudié l'atrazine, l'atrazine déséthyle et la simazine dans l'eau, les particules en suspension et les sédiments de deux rivières chinoises. Aucun des herbicides n'a pu être détecté dans les sédiments et dans la matière organique sauf à de rares exceptions pour l'atrazine avec des concentrations toujours inférieures à 3 ng g<sup>-1</sup>, ps. Aucun résidu d'atrazine n'a été trouvé dans l'étude nationale de surveillance canadienne sur 1075 échantillons alimentaires (IARC, 1991), ni dans les échantillons d'une étude américaine (Luke *et al.*, 1988).

L'absence de triazines dans ces échantillons peut avoir différentes origines :

- *Leur dégradation dans l'environnement.* La dégradation de l'atrazine a été étudiée par de nombreux auteurs mais uniquement dans les sols, pas dans les sédiments (Walker et Zindhal, 1981 ; Rocha et Walker, 1995 ; Miller *et al.*, 1997 ; Pussemier *et al.*, 1997). La persistance sur le terrain dépendrait de plusieurs facteurs tels que les conditions météorologiques, le pH du sol ou le taux de matière organique (Pussemier *et al.*, 1997).
- *Leur faible accumulation dans les organismes.* L'absorption d'atrazine par les poissons et les mollusques d'eau douce se fait rapidement mais son accumulation est faible (Gunkel et Streit, 1980) ; elle dépend de l'organisme et de la concentration en atrazine dans l'eau. La bioaccumulation des pesticides est liée à leur Kow. Le Kow des triazines varie de 1,95 à 3,38 (Montiel *et al.*, 1989) suggérant que leur potentiel de bioaccumulation est faible (Barceló, 1991). De plus, la biomagnification de l'atrazine dans les chaînes alimentaires est considérée comme négligeable (Eisler, 1989). Aucune accumulation d'atrazine n'a été enregistrée dans les mollusques, les sangsues, les cladocères ou les poissons lors

d'une contamination par le biais de la nourriture (Gunkel et Streit, 1980 ; Gunkel, 1981) ce qui peut expliquer son faible potentiel de biomagnification. Les mêmes auteurs ont également montré qu'après une exposition à de fortes concentrations de triazines dans le milieu d'étude (50 à 250  $\mu\text{g l}^{-1}$ ), son élimination était très rapide et variait de 8 à 52 minutes dans les corégones et était de 10 minutes dans des escargots d'eau douce. La simazine a également un faible potentiel de bioaccumulation mais son élimination est plus lente (Strandberg et Scott-Fordsmand, 2002).

En Seine, en 1998, les flux annuels d'atrazine et d'atrazine déséthyle étaient supérieurs à 1000 kg et les flux de simazine étaient supérieurs à 350 kg (Tronczynski *et al.*, 1999). L'absence de ces contaminants dans les organismes vivant dans ces milieux peut sembler étrange si on prend en compte ces valeurs de flux annuels. Cependant, plus on s'approche de l'estuaire, plus les concentrations en ces deux contaminants diminuent (Tronczynski *et al.*, 1999). Ainsi, les propriétés physico-chimiques et le comportement dans l'environnement des triazines sont autant de facteurs expliquant le phénomène observé dans cette étude. Leur faible capacité de bioaccumulation et de biomagnification permet donc de penser que la consommation de produits de la mer par les êtres humains n'est pas à l'origine d'un apport de triazines très important. Cependant, même si ces molécules ne sont pas bioaccumulées ou biomagnifiées dans les organismes, elles sont tout de même susceptibles d'engendrer une toxicité aiguë et d'avoir ainsi un impact sur la santé des écosystèmes.

### **I.1.2. L'absence des PBB dans les échantillons analysés**

Les PBB n'ont jamais été détectés dans les échantillons analysés. Pourtant, ces molécules ont été produites en France jusqu'en 2000. Cependant, l'usine qui les fabriquait n'était située sur aucun des bassins versants des estuaires étudiés. De nombreuses études réalisées sur ces produits ont montré leur absence dans de nombreux environnements alors que ces molécules étaient encore fabriquées (Allchin *et al.*, 1999 ; De Boer *et al.*, 2003 ; Hellström, 2000 ; Öberg *et al.*, 2002). Cette observation est en accord avec la production négligeable de PBB par rapport aux PBDE durant les dix dernières années. Ainsi, par exemple en 1999, dans l'Union Européenne, l'utilisation de PBB était inférieure à 1000 tonnes par an alors que l'utilisation des PBDE représentait 7550 tonnes par an (Hellström, 2000).

Ainsi, la contamination des estuaires français étudiés par les PBB est très faible et ne semble donc pas constituer un réel danger pour l'environnement aquatique.

## **I.2. Contamination des estuaires français par les PBDE et comparaison avec les autres sites mondiaux**

### **I.2.1. Le cas des sédiments**

Les résultats observés pour les sédiments sont tout à fait en accord avec de nombreuses études qui ont montré que les sédiments avaient tendance à être contaminés par des congénères fortement bromés et en particulier par le BDE-209 (De Wit, 2002). Le BDE-209 était en effet présent en grande concentration dans tous les échantillons analysés. Ce congénère a été identifié comme étant un contaminant très important dans certains sédiments de rivières (tableau XLIX). Les concentrations les plus fortes -jusqu'à 11600 ng g<sup>-1</sup>, ps- ont été observées au Japon et en Suède (Watanabe *et al.*, 1986, 1987, 1998 ; Environmental Agency Japan, 1991 ; Sellström *et al.*, 1998a). La concentration maximum observée dans la présente étude (1,1 ng g<sup>-1</sup>, ps au Pont de Normandie) était bien inférieure à de nombreuses valeurs rapportées dans la littérature mondiale.

Les résultats obtenus ici peuvent être reliés à ceux obtenus par Watanabe *et al.* (1987) qui a montré la présence du BDE-209 à de fortes concentrations dans des sédiments de rivière mais pas dans les sédiments estuariens à l'embouchure de la même rivière. Une des explications proposée était basée sur la mobilité limitée de ce composé lorsqu'il est fortement lié aux particules de sédiments. La débromation du BDE-209 par photodégradation a également été évoquée et produirait ainsi des congénères moins bromés tel que le BDE-47 (Watanabe et Tatsukawa, 1987 ; Allchin *et al.*, 1999). Une étude récente a montré que la demi-vie du BDE-209 était de 80 jours dans des sédiments soumis à la lumière du jour de façon discontinue et de 30 jours lors d'une exposition continue (Söderström *et al.*, 2004). Ceci pourrait expliquer la présence du BDE-47 dans tous les échantillons.

**Tableau XLIX :** Sélection de concentrations de PBDE dans l'environnement. ps = poids sec ; pl = poids de lipides.

ECHANTILLON	SITE	CONGÉNÈRES	CONCENTRATIONS (ng g <sup>-1</sup> )	
Sédiment	Estuaire de Seine <sup>(a)</sup>	BDE-47	0,05 – 0,5 ps	
		BDE-100	ND-0,5 ps	
		BDE-154	ND-0,2 ps	
		BDE-209	0,1 – 1,1 ps	
Sédiment	Estuaire de Loire <sup>(a)</sup>	BDE-47	0,04-0,1 ps	
		BDE-209	0,1-0,2 ps	
Sédiment	Japon <sup>(b)</sup>	BDE-209	Jusqu'à 11600 ps	
Sédiment	Great-Britain <sup>(c)</sup>	BDE-209	Jusqu'à 3190 ps	
Sédiment	Rivières européennes <sup>(d)</sup>	BDE-47	0,2-5,9 ps	
		BDE-99 + BDE-100	0,2-7,1 ps	
		BDE-209	<0,1-1800 ps	
		BDE-47	0,7 ps	
Sédiment	Estuaire de la Seine <sup>(d)</sup>	BDE-99 + BDE-100	0,9 ps	
		BDE-209	13 ps	
		BDE-209	Jusqu'à 510 ps	
Polychètes <i>Nereis diversicolor</i>	Estuaires français <sup>(a)</sup>	BDE-28	<2-3,6 pl / <0,02-0,04 pf	
BDE-47		3,3-10,5 pl / 0,03-0,12 pf		
BDE-99		<2-2,3 pl / <0,02-0,03 pf		
Polychètes <i>Nereis virens</i>	Estuaire du Saint-Laurent <sup>(f)</sup>	BDE-47	0,18 pf	
		BDE-99	0,19 pf	
		BDE-100	0,10 pf	
Moule <i>Mytilus edulis</i>	Estuaire de Seine <sup>(a)</sup>	BDE-28	2,1-4 pl / <0,2 ps / 0,03-0,04 pf	
		BDE-47	7,0-9,2 pl / 0,42-0,82 ps / 0,09-0,13 pf	
		BDE-154	<2-2,2 pl / <0,2 ps / ND-0,02 pf	
		BDE-28	0,25 ps	
Moule <i>Mytilus edulis</i>	Estuaire de Seine <sup>(g)</sup>	BDE-47	4,19 ps	
		BDE-154	0,30 ps	
		Autres BDE (n=11)	5,23 ps	
Moule <i>Mytilus edulis</i>	Royaume-Uni (Wash) <sup>(h)</sup>	BDE-47	194 pl	
		BDE-99	217 pl	
Moule <i>Mytilus edulis</i>	Pays-Bas <sup>(i)</sup>	Site de référence	BDE-47 0,9 ps BDE-99 0,3 ps	
		Site contaminé	BDE-47	4,3 ps
			BDE-99	1,6 ps
		Moule <i>Mytilus edulis</i>	Danemark <sup>(i)</sup>	BDE-47
BDE-99	4,27 pl (1.5-15.9)			
BDE-100	0,86 pl (0.3-2.9)			
BDE-153	0,87 pl (0.5-1.7)			
Moule <i>Mytilus edulis</i>	Groenland <sup>(k)</sup> (Site de référence)	BDE-47	5 pl	
		BDE-99	1 pl	
		BDE-100	<1 pl	
		BDE-153	<2,5 pl	
Moule <i>Perna viridis</i>	Singapour <sup>(l)</sup>	BDE-47	0,71 ps	
		BDE-99	0,57 ps	
		BDE-100	0,13 ps	
		BDE-154	0,05 ps	
		BDE-153	< DL	
		A proximité d'une usine de fabrication d'appareils électriques et d'une usine de recyclage de déchets électroniques <sup>(l)</sup>	BDE-47	11 ps
BDE-99	18 ps			
BDE-100	5,3 ps			
BDE-154	0,45 ps			
BDE-153	0,64 ps			
Moule d'eau douce <i>Dreissena polymorpha</i>	Belgique <sup>(m)</sup>	Σ 10 BDE	0,15-1,82 pf	

(a) Notre étude ; (b) Watanabe *et al.*, 1986, 1987, 1995; Environmental Agency Japan, 1991; (c) Allchin *et al.*, 1999; (d) Kierkegaard *et al.*, 1996 ; Van Zeijl, 1997 ; Sellström *et al.*, 1999 ; (e) De Boer *et al.*, 2000b; (f) Law *et al.*, 2003; (g) Johansson *et al.*, 2004 ; (h) Allchin *et al.*, 1999; (i) De Boer *et al.*, 2003; (j) Christensen and Platz, 2001; (k) Christensen *et al.*, 2002; (l) Bayen *et al.*, 2003 ; (m) Covaci *et al.*, 2004.

Une précédente étude menée sur des estuaires européens et notamment sur l'estuaire de la Seine, a montré des observations quelque peu différentes des nôtres (Kiekergaard *et al.*, 1996 ; Van Zeijl, 1997 ; Sellström *et al.*, 1999). La concentration en BDE-47 était aux alentours de  $0,7 \text{ ng g}^{-1}$ , ps, la somme des BDE-99 et -100 représentait  $0,9 \text{ ng g}^{-1}$ , ps et le BDE-209 a été quantifié à  $13 \text{ ng g}^{-1}$ , ps. A l'heure actuelle, la concentration de BDE-47 est légèrement inférieure (maximum  $0,5 \text{ ng g}^{-1}$ , ps) et le BDE-100 est le seul pentaBDE à avoir été détecté mais uniquement au Pont de Normandie à des concentrations allant jusqu'à  $0,5 \text{ ng g}^{-1}$ , ps. La plus forte concentration observée par les auteurs était celle du DecaBromoBiphenyl (BB-209 ; de la famille des PBB) qui atteignait  $3,9 \text{ ng g}^{-1}$ , ps. La présence de ce composé s'explique par le fait qu'à cette époque, le Deca-BB (mélange technique employé dans l'industrie et composé en majorité de BB-209) était fabriqué en France. Depuis cette étude, les concentrations de BDE-209 n'ont pas augmenté malgré l'arrêt de la fabrication du DecaBB et son remplacement par d'autres produits de Deca-BDE (mélange technique employé dans l'industrie et composé en majorité de BDE-209) et de Penta-BDE (mélange technique employé dans l'industrie et composé de BDE-47, de BDE-99, de BDE-100 et de BDE-153 et de BDE-154), ce qui pourrait expliquer la présence occasionnelle du BDE-154.

### **I.2.2. Le cas du biota**

*Rappel :* Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus dans la présente étude avec les données de la littérature, toutes les concentrations dans le biota ont été calculées en fonction du poids de lipides (pl), du poids sec (ps) et du poids frais (pf).

L'absence de concentrations détectables de BDE-209 dans les échantillons biologiques, alors que la molécule est présente dans les sédiments n'est pas étonnante. En effet, de nombreuses études ont montré son absence dans le biota (Watanabe *et al.*, 1987 ; Sellström *et al.*, 1998a ; De Boer *et al.*, 2000b, 2003). Des études ont mis en évidence son élimination rapide par voie fécale dans des rats à qui du deca-BDE avait été administré (Norris *et al.*, 1975b ; El Dareer *et al.*, 1987 ; Mörck et Klasson-Wehler, 2001). 99% du produit était éliminé dont une partie sous forme de métabolites (El Dareer *et al.*, 1987). Seul 1% semblait avoir été adsorbé au niveau du tractus digestif mais moins de 0,1% de la dose administrée avait été retrouvée dans les organismes (Norris *et al.*, 1975b). Ceci pourrait être dû à la débromation des contaminants organiques bromés qui a été observée dans les carpes et les truites même s'il faut garder à l'esprit que le métabolisme des contaminants peut être

différent d'une espèce à l'autre (Stapleton *et al.*, 2002, 2004a, 2004b, 2004c ; Tomy *et al.*, 2004). Kierkegaard *et al.* (1999) ont également montré, dans une étude sur le BDE-209 dans les truites, que leur efficacité d'absorption était très faible (0,02 – 0,13%). Pourtant, cela ne serait pas dû à la taille de la molécule comme les scientifiques l'ont longtemps pensé. En effet, des études menées par Klasson-Wehler *et al.* (1997), Sjödin *et al.* (1999b), Jakobsson *et al.*, 2002, Mariussen *et al.*, (2003, 2004) et Lindberg *et al.* (2004) ont montré la présence du BDE-209 dans le plasma humain, dans le sang de travailleurs suédois et de personnes travaillant sur ordinateur, dans les poissons, dans les lynx, dans les souris et dans les faucons pèlerins. Toutes ces données prouvent que le BDE-209 n'est pas une molécule « trop large » pour passer les membranes biologiques et l'étude de Kierkegaard *et al.* (1999) a montré que ce congénère pouvait être biodisponible. Cependant, toutes ces espèces se situent à des niveaux trophiques souvent plus élevés que les espèces étudiées ici et le fait que le BDE-209 soit à des concentrations détectables dans ces échantillons pourrait être lié à son potentiel de biomagnification dans la chaîne alimentaire. Verreault *et al.* (2004) ont suggéré que le BDE-209 pouvait avoir un potentiel de bioaccumulation dans les goélands se reproduisant à Bear Island mais également dans la chaîne alimentaire de la mer de Barrens. De même, une augmentation de concentration du BDE-209 avec le niveau trophique a été observée dans la chaîne alimentaire de la mer Baltique comprenant des sprats, des harengs et des saumons (facteur de biomagnification de 2,9 entre les harengs et les sprats et de 1,7 entre les saumons et les harengs) (Law *et al.*, 2004).

La seule étude menée sur des polychètes intrasédimentaires a été réalisée sur des néréis (*Nereis virens*) de l'estuaire du Saint-Laurent recevant les eaux d'une des régions les plus industrialisées du monde (Law *et al.*, 2003) (tableau XLIX). Les trois composés majeurs présents dans les échantillons étaient le BDE-47, le BDE-99 et le BDE-100. Les concentrations maximums en BDE-47 déterminées dans les polychètes des estuaires français et en particulier à Honfleur, étaient légèrement inférieures aux concentrations moyennes mesurées dans les polychètes de l'estuaire du Saint-Laurent. Le BDE-99 était quelquefois présent mais à des concentrations bien inférieures aux valeurs canadiennes. Quant au BDE-100, il n'a pas été détecté dans la présente étude. Dans l'étude canadienne, le BDE-28 représentait une très faible part de la concentration totale en PBDE alors que dans quelques échantillons des estuaires français, ce congénère représentait jusqu'à 30% de la concentration totale en PBDE. Ceci n'a jamais été observé dans d'autres études jusqu'à aujourd'hui, du moins dans les annélides.

Parmi les bivalves, les espèces les plus étudiées sont les moules (tableau XLIX). Toutes les données de la littérature permettent de penser que les estuaires de Seine et de Loire sont très peu contaminés puisque les concentrations en BDE-47 sont très proches des valeurs déterminées dans les sites de référence du monde entier (Christensen et Platz, 2001 ; Christensen *et al.*, 2002 ; Bayen *et al.*, 2003 ; De Boer *et al.*, 2003). Cependant, en Seine, les concentrations de PBDE ont été examinées dans des moules collectées entre 1981 et 2003 dans une station située à quelques kilomètres de notre site de prélèvement (Johansson *et al.*, 2004). Toutes les moules de cette étude ont été collectées chaque année à la même période : entre fin novembre et début décembre. Les concentrations de BDE-28, BDE-47 et de BDE-154 étaient supérieures à celles déterminées dans les organismes de la présente étude collectés de février à août. Ces différences de concentrations dépendent probablement des variations saisonnières liées à la période de reproduction et/ou à l'état physiologique des moules. En effet, sur les mêmes sites de collecte, le ratio entre la concentration minimum et maximum dans les moules d'un autre composé organohalogéné, le CB-153, variait d'un facteur 6 ; les plus faibles valeurs ayant été enregistrées au printemps et en été, c'est-à-dire après la ponte (RNO, 2000). Dans la plupart des sites contaminés (la rivière Watch au Royaume-Uni ou à Singapour), les concentrations de BDE-47 étaient environ 20 fois supérieures à celles déterminées dans les moules de l'estuaire de la Seine (Allchin *et al.*, 1999 ; Bayen *et al.*, 2003). Dans une étude menée sur différents sites soumis à des pollutions plus ou moins importantes en Belgique, les concentrations obtenues dans le site le moins contaminé étaient similaires aux valeurs obtenues dans les moules de Seine alors que dans le site le plus contaminé, ces valeurs étaient quatorze fois supérieures à celles de cette étude (Covaci *et al.*, 2004).

Cette étude a mis en évidence une relation positive entre les concentrations de PBDE dans les sédiments et leurs concentrations dans les organismes vivants dans ces sédiments ; cependant, ces corrélations n'étaient significatives que pour les organismes de l'estuaire de la Loire. Les relations entre les sédiments et le biota et particulièrement entre les sédiments et les polychètes ont été étudiées par Leppänen et Kukkonen (2003) qui ont montré que les BDE-47 et -99 présents dans les sédiments étaient facilement disponibles pour les oligochètes (*Lumbriculus variegatus*) vivant dans ces sédiments, permettant ainsi un transfert des contaminants dans la chaîne alimentaire.

**Tableau XLIX (suite 1) :** Sélection de concentrations de PBDE dans l'environnement. pf = poids frais ; ps = poids sec ; pl = poids de lipides.

ECHANTILLON	SITE	CONGÉNÈRES	CONCENTRATIONS (ng g <sup>-1</sup> )
Zooplancton	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	12,4-15 pl / 0,15-0,31 ps / 0,005-0,013 pf
Zooplancton	Estuaire du Saint-Laurent, Canada <sup>(b)</sup>	Σ10 BDE	1,5 pf
Zooplancton	Mer Baltique <sup>(c)</sup>	BDE-47	3,3 pl
Crevettes grises ( <i>C. crangon</i> )	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	17-36 pl / 0,7-1,1 ps / 0,1-0,3 pf
Crevettes blanches ( <i>P. elegans</i> )			15-83 pl / 0,5-2,5 ps / 0,1-0,6 pf
Crevettes roses ( <i>P. serratus</i> )			9-41 pl / 0,5-1,5 ps / 0,1-0,4 pf
Crevettes blanches ( <i>P. elegans</i> )	Estuaire de la Seine <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	98 pl / 4,3 ps / 0,5 pf
Crevettes	Mer du Nord <sup>(d)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -154	51-59,8 pl
		BDE-153	ND
Crevettes ( <i>P. borealis</i> )	Estuaire du Saint-Laurent, Canada <sup>(b)</sup>	Σ10 BDE	0,24 pf
Crevettes ( <i>C. crangon</i> )	Mer du Nord, Belgique Estuaire de la Scheldt <sup>(e)</sup>	Σ6 BDE	0,02-0,08 pf 0,2-8,3 pf
Crabes ( <i>C. maenas</i> )	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	17,7-24,4 pl / 1,8-1,9 ps / 0,4-0,5 pf
Abdomen de crabes ( <i>P. bernhardus</i> )	Mer du Nord <sup>(d)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	16,3 - 304 pl
Hépatopancréas de crabes ( <i>C. magister</i> )	Canada <sup>(f)</sup>	Σ14 BDE	4,2 - 480 pl
Crabes ( <i>L. holsatus</i> )	Mer du Nord, Belgique <sup>(e)</sup> Estuaire de la Scheldt <sup>(e)</sup>	Σ6 BDE	0,36-1,4 pf 1,2-29,9 pf
Crabes ( <i>C. pagurus</i> )	Baie de Seine, France <sup>(g)</sup> Bretagne, France <sup>(g)</sup>	Σ13 BDE	0,16 ps 0,03-0,11 ps
Crabes ( <i>M. brachydactyla</i> )	Bretagne, France <sup>(g)</sup>	Σ13 BDE	0,05 ps

<sup>(a)</sup> Notre étude ; <sup>(b)</sup> Law *et al.*, 2003 ; <sup>(c)</sup> Law *et al.*, 2004 ; <sup>(d)</sup> Boon *et al.*, 2002 ; <sup>(e)</sup>Voorspoels *et al.*, 2003 ; <sup>(f)</sup> Ikonomidou *et al.*, 2002 ; <sup>(g)</sup>Bodin *et al.*, 2004.

Les PBDE semblent donc avoir la capacité d'être transférés depuis le sédiment, qui constitue un important compartiment de stockage des contaminants organiques, jusqu'aux organismes vivant au contact de celui-ci.

Concernant le zooplancton, les valeurs maximales totales de PBDE obtenues sont plus de cent fois inférieures aux valeurs trouvées dans des échantillons provenant d'un site particulièrement contaminé par les PBDE : l'estuaire du Saint-Laurent (Law *et al.*, 2003) (tableau XLIX *suite 1*). Par contre les concentrations obtenues dans cette étude sont plus importantes que les niveaux mesurés dans le zooplancton de la mer Baltique (Law *et al.*, 2004).

Les concentrations obtenues dans toutes les espèces de crevettes sont proches (voire supérieures dans les crevettes blanches de Seine) de celles obtenues dans les espèces de la mer du Nord mais également, de façon plus étrange, de l'estuaire du Saint-Laurent considéré comme particulièrement contaminé (Boon *et al.*, 2002 ; Law *et al.*, 2003) (tableau XLIX *suite 1*). Cependant, l'espèce étudiée au Canada était différente des espèces présentes dans nos estuaires.

Aucun auteur n'a réalisé de recherches sur la même espèce de crabe que celle étudiée ici (tableau XLIX *suite 1*). Cependant, les résultats obtenus sur les autres espèces montrent que les valeurs obtenues chez *C. maenas* sont très proches de celles mesurées dans les sites les moins contaminés (Boon *et al.*, 2002 ; Ikonomou *et al.*, 2002 ; Law *et al.*, 2004). En revanche, elles sont supérieures à celles obtenues en France par Bodin *et al.* (2004). Le fait que ces auteurs aient travaillé sur des sites situés au bord de la mer peut expliquer cette différence puisqu'en se jetant dans l'océan, ces contaminants subissent un important phénomène de dilution. Il est également intéressant d'observer que les crabes ont de fortes concentrations de PBDE par rapport aux autres invertébrés étudiés ici. Ceci pourrait s'expliquer par leur place très complexe dans le réseau trophique. En effet, ils se nourrissent aussi bien d'organismes situés au début de ce réseau que de poissons morts occupant les plus hauts niveaux de ce même réseau.

**Tableau XLIX (suite 2) :** Sélection de concentrations de PBDE dans l'environnement. pf = poids frais ; ps = poids sec ; pl = poids de lipides.

ECHANTILLON	SITE	CONGÉNÈRES	CONCENTRATIONS (ng g <sup>-1</sup> )
Muscles de flets ( <i>P. flesus</i> )	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup> Estuaire de la Seine <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	7,9-87 pl / 0,3-3,3 ps / 0,06-0,7 pf 98-1063 pl / 4,3-30,6 ps / 0,7-5,5 pf
Foies de flets	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup>		64,1-73,8 pl / 6,3-6,8 pf
Muscles de flets ( <i>P. flesus</i> )	Royaume –Uni (plusieurs sites contaminés) <sup>(b)</sup>	BDE-47+-99+-100	1,2-27,5 pf
Foies de flets			17,1-1532 pf
Muscles de flets	Japon <sup>(c)</sup>	Σ15 BDE	5,35-19,9 pl / 0,09-0,38 pf
Foies de flets ( <i>P. flesus</i> )	Ports d'Amsterdam et de Rotterdam, Pays-Bas <sup>(d)</sup>	BDE-47 BDE-99	15-280 pl ND-24 pl
Foie de flets ( <i>P. vetulus</i> )	Canada <sup>(e)</sup>	Σ14 BDE	12-340 pl
Muscles de flets ( <i>P. flesus</i> )	Pays-Bas <sup>(f)</sup>	BDE-47+-99 BDE-153 BDE-209	0,6-24,6 ps ND ND
Foie de flets ( <i>P. putmani</i> )	Estuaire du Saint-Laurent, Canada <sup>(g)</sup>	Σ10 BDE	41 pf
Foies de flets ( <i>P. flesus</i> )	Norvège <sup>(h)</sup>	Σ8 BDE	138,4 pl
Muscles de soles ( <i>S. solea</i> )	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	0,2-1,1 pf
Foies de soles ( <i>S. solea</i> )			4,3-7,2 pf
Muscles de soles ( <i>S. solea</i> )	Mer du Nord, Belgique <sup>(i)</sup> Estuaire de la Scheldt <sup>(i)</sup>	Σ6 BDE	0,1-0,7 pf 1,2-29,9 pf
Foies de soles ( <i>S. solea</i> )	Mer du Nord, Belgique <sup>(i)</sup> Estuaire de la Scheldt <sup>(i)</sup>	Σ6 BDE	0,8-8,2 pf 15-90 pf
Muscles d'anguilles ( <i>A. anguilla</i> )	Estuaire de la Loire <sup>(a)</sup> Estuaire de la Seine <sup>(a)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	1,3-4,3 pl / 0,3-0,9 pf 64-103 pl / 3,5-13,1 pf
Foies d'anguilles ( <i>A. anguilla</i> )	Estuaire de la Seine <sup>(a)</sup>		54,6 pl / 1,3 pf
Foies d'anguilles	Rivière Elbe, Allemagne Affluents de l'Elbe <sup>(j)</sup>	Σ10 BDE	1,5-7,7 pf 2,2-5,8 pf
Muscles d'anguilles ( <i>A. anguilla</i> )	Royaume –Uni (rivières Skerne et Tees) <sup>(k)</sup>	Σ -28,-47,-99, -100, -153, -154	130-235 pf
Muscles d'anguilles ( <i>A. rostrata</i> )	Estuaire du Saint-Laurent, Canada <sup>(g)</sup>	Σ10 BDE	101 pf
Foies d'anguilles ( <i>A. anguilla</i> )	Belgique <sup>(l)</sup>	Σ10 BDE	1,98-14 pf
Muscles d'anguilles ( <i>A. anguilla</i> )	Norvège <sup>(h)</sup>	Σ8 BDE	11,3 pl

<sup>(a)</sup> Notre étude ; <sup>(b)</sup> Allchin *et al.*, 1999 ; <sup>(c)</sup> Akutsu *et al.*, 2001 ; <sup>(d)</sup> De Boer *et al.*, 2001 ; <sup>(e)</sup> Ikononou *et al.*, 2002 ; <sup>(f)</sup> De Boer *et al.*, 2003 ; <sup>(g)</sup> Law *et al.*, 2003 ; <sup>(h)</sup> Schlabach *et al.*, 2004 ; <sup>(i)</sup> Voorspoels *et al.*, 2003 ; <sup>(j)</sup> Lepom *et al.*, 2002 ; <sup>(k)</sup> Allchin et Morris, 2003 ; <sup>(l)</sup> Covaci *et al.*, 2004.

Les résultats obtenus dans les muscles de flets indiquent que les flets de Seine sont cinq fois moins contaminés que les flets les plus contaminés d'Angleterre (Allchin *et al.*, 1999) (tableau XLIX *suite 2*). De Boer *et al.* (2003) ont obtenu des résultats très similaires aux nôtres dans plusieurs sites des Pays-Bas plus ou moins contaminés. Les flets de Loire possédaient des concentrations plus proches de celles des zones les moins contaminées alors que ceux de Seine étaient plus proches des sites les plus contaminés. En revanche, les valeurs obtenues en Seine étaient bien supérieures à celles obtenues dans la mer intérieure de Seto au Japon (Akutsu *et al.*, 2001). Celles de Loire étaient identiques. Toutes les données obtenues dans les foies de flets de Loire étaient bien inférieures à toutes les autres études réalisées sur la même matrice dans des sites considérés comme contaminés (Allchin *et al.*, 1999 ; De Boer *et al.*, 2001 ; Ikonomou *et al.*, 2002 ; Law *et al.*, 2003 ; Schlabach *et al.*, 2004).

Les mesures effectuées dans les échantillons de flets obtenus en Loire et en Seine n'ont pas permis de mettre en évidence de relations entre les concentrations en PBDE et en PCB qu'ils contenaient. Plusieurs études ont pourtant mis en évidence des tendances à la corrélation entre les PCB et les PBDE dans des filets de harengs (Andersson *et al.*, 2003), dans des moules (*M. edulis*) et des poissons du Groenland (Christensen *et al.*, 2002), dans des foies de flets (De Boer *et al.*, 2001), dans divers poissons de rivières des Etats-Unis (Hale *et al.*, 2001), dans des saumons du lac Michigan (Manchester-Neesvig *et al.*, 2001), dans divers produits alimentaires (Kiviranta *et al.*, 2004) et dans des tissus adipeux humains en Belgique (Covaci *et al.*, 2002a). Cependant, dans toutes ces études, les gammes de concentrations étaient plus larges et le nombre d'échantillons généralement beaucoup plus important. Certaines études menées sur des moules (*P. viridis*) et des filets de perches, avec des gammes de concentrations réduites, n'ont pas permis de mettre en évidence une relation entre les PCB et les PBDE (Bayen *et al.*, 2003 ; Olsson *et al.*, 1999). L'absence de relation entre ces deux contaminants dans la présente étude pourrait également provenir d'une exposition des poissons à des sources différentes de contamination. En effet, les PCB et les PBDE ne sont, en général, pas présents dans les mêmes matériaux. De plus, étant donné que les PCB ne sont plus fabriqués aujourd'hui, leur comportement et leur présence dans l'environnement ne doivent pas être les mêmes que ceux des PBDE ; donc leur absorption et leur accumulation dans les organismes peuvent être différentes.

Seule une étude a été réalisée sur la sole et a permis d'obtenir des résultats dans un site considéré comme sain (Mer du Nord) et dans un site considéré comme particulièrement

contaminé (estuaire de la Scheldt) (Voorspoels *et al.*, 2003) (tableau XLIX suite 2). Les résultats obtenus à la fois dans les muscles et dans les foies des individus de Loire montrent des valeurs extrêmement similaires à celles obtenues dans le site sain.

Toutes les valeurs obtenues dans les muscles et les foies d'anguilles dans différents sites étaient supérieures aux valeurs obtenues sur ces mêmes organes dans les individus de Loire et de Seine pour les sites les plus contaminés et égales pour les sites les moins contaminés (Lepom *et al.*, 2002 ; Allchin et Morris, 2003 ; Law *et al.*, 2003) (tableau XLIX suite 2). Le travail de Schlabach *et al.* (2004) a mis en évidence, dans les muscles d'anguilles provenant d'une zone industrialisée de Norvège, des concentrations similaires aux valeurs obtenues dans les muscles d'anguilles de Seine.

Le présent travail n'a pas permis de mettre en évidence une relation entre la concentration en PBDE et le poids et/ou la taille que chez les anguilles de Seine, en partie sans doute parce que les échantillons analysés n'étaient pas assez variés au niveau de la taille et du poids. En effet, dans différentes études réalisées sur ce sujet, la plupart des auteurs ont montré une augmentation des concentrations en PBDE lorsque la taille ou le poids des poissons (carpes, saumons, poissons-chats et bars) augmentait (Loganathan *et al.*, 1995 ; Manchester-Neesvig *et al.*, 2001 ; Hale *et al.*, 2001). Burreau *et al.* (2004) ont également mis en évidence une corrélation positive entre la taille des brochets et leur concentration en PBDE mais uniquement chez les individus mâles, pas chez les femelles. Excepté pour les flets de Loire et de Seine où la majorité des individus étaient des femelles (au moins 62,5 % en Loire et 77% en Seine), le sexe des poissons échantillonnés n'était pas connu. Ce facteur pourrait donc avoir un impact sur les corrélations observées. De plus, les résultats de la présente étude ont été obtenus en se basant uniquement sur les concentrations de PBDE uniquement dans les filets de poissons. Il est donc impossible de pouvoir confirmer ou infirmer ce phénomène.

L'étude sur l'organotropisme a permis de montrer une variabilité interspécifique du site de stockage des PBDE –foie ou muscle- dans les poissons. Ainsi, les soles n'avaient pas de lieu de stockage privilégié, les flets avaient tendance à stocker les PBDE un peu plus dans le foie que dans les muscles et l'inverse était observé pour les anguilles. Des ratios similaires ont été obtenus par Voorspoels *et al.* (2003) dans des soles (0,47) et par Allchin *et al.* (1999) dans des flets (0,55). En revanche, aucune étude de ce type n'a été menée sur des anguilles. Cependant, le fait que le stockage des PBDE chez les anguilles se fasse un peu plus dans le muscle semble en accord avec le fait que, chez les anguilles argentées, plus de 80% de l'énergie disponible est stockée sous la forme de triglycérides dans les muscles (Robinet et

Feunteun, 2002). Les triglycérides étant particulièrement hydrophobes, les PBDE pourraient avoir tendance à se stocker un peu plus dans ces tissus.

**La comparaison des données de la présente étude avec celles des autres études réalisées dans le monde montre que l'estuaire de la Loire est une zone peu contaminée puisque dans la plupart des cas, les résultats obtenus étaient similaires à ceux des sites de références ou à ceux des sites les moins contaminés. La contamination de l'estuaire de la Seine en PBDE est plus marquée sans pour autant que ce site puisse être considéré comme très contaminé.**

Le niveau de pollution de l'estuaire de la Seine semble assez similaire à celui des zones industrialisées ce qui est en accord avec le type de contamination arrivant dans l'estuaire. La dernière usine fabriquant des retardateurs de flamme en France n'est située ni dans les régions, ni sur les bassins versants des sites étudiés ici. Il existe moins de vingt-cinq usines utilisant ces produits sur le bassin versant de l'estuaire de la Loire et moins de quarante sur le bassin versant de l'estuaire de la Seine mais il est impossible de savoir si ces usines utilisent des PBDE (Kompass, 2004). La contamination modérée des sites d'étude pourrait résulter de l'incinération et de l'utilisation des produits de la vie courante contenant des PBDE.

### **I.2.3. Comparaison avec les résultats obtenus dans d'autres chaînes alimentaires**

La biomagnification du congénère majoritaire, le BDE-47, a pu être mise en évidence dans les chaînes alimentaires des estuaires de Loire et de Seine.

Le tableau L recense les résultats obtenus dans quelques études réalisées sur la contamination par les PBDE d'espèces représentant différents niveaux de chaînes alimentaires.

**Tableau L :** Valeurs minimales et maximales de BDE-47 (ng g<sup>-1</sup>, pf) observées dans cette étude et dans différents estuaires de l'hémisphère nord. <sup>1</sup> Law *et al.*, 2003 ; <sup>2</sup> Voorspoels *et al.*, 2004.

Niveau trophique	Concentrations de BDE-47 (ng g <sup>-1</sup> , pf)			
	Nos données	Estuaire du St Laurent <sup>1</sup>	Estuaire Scheldt <sup>2</sup>	Mer du Nord Belgique <sup>2</sup>
Consommateurs primaires	0.004 – 0.1	0,66		
Omnivores	0,03 – 2,1	0,17 – 30	0,2 – 15,5	0,02 – 1,8
Nécrophages	0,3 – 0,4		1,2 – 30	0,4 – 1,4
Supercarnivores	0,5 - 11	65		

La région du St Laurent reçoit les eaux d'une des régions les plus industrialisées du monde (Law *et al.*, 2003). Les organismes constituant la chaîne alimentaire de cet estuaire sont donc directement exposés aux contaminants transportés par les apports fluviaux. Le réseau trophique étudié était constitué d'un consommateur primaire (zooplancton), d'omnivores (polychètes intrasédimentaires, crevettes, harengs, éperlans, plies, flets, flétans, cabillauds) et de supercarnivores (anguilles, phoques et baleines). Les espèces choisies dans le tableau L pour la comparaison sont le zooplancton, les polychètes intrasédimentaires, les crevettes, les poissons plats et les anguilles. De plus, on peut souligner que la différence de concentration en BDE-47 entre la baleine (plus forte concentration) et les crevettes (moins forte concentration) représente un facteur 2618. L'étude de Voorspoels *et al.* (2003) a été menée sur différentes espèces (crabes, gobies, étoiles de mer, crevettes, limandes, plies, tacauds et merlans) dans deux sites : la mer du Nord (Belgique) considérée comme un site non pollué et l'estuaire de la Scheldt dans lequel est implantée une usine de production de BFR. Cependant, la biomagnification observée dans ces sites n'était que très légère car la plupart des poissons étudiés se nourrissaient d'invertébrés benthiques.

Boon *et al.* (2002) ont mis en évidence l'augmentation des concentrations dans divers organismes issus de la mer du Nord au fur et à mesure de l'élévation dans la chaîne alimentaire (cette étude ne figure pas dans le tableau L étant donné que les auteurs ont exprimé leurs résultats en poids de lipides et non en poids frais). Le réseau trophique était constitué d'étoiles de mer, de crabes, de bulots, de crevettes, de harengs, de morues, de limandes, de marsouins et de phoques. Il n'existait pas de réelles différences entre les différents invertébrés, les harengs et les espèces gadoïdes mais l'écart de concentration entre ces différentes espèces et les marsouins et les phoques était très important. Cependant, leurs résultats étaient exprimés en poids de lipides et comme nous l'avons montré dans cette étude, cette expression peut engendrer un biais dans les résultats particulièrement lorsque les espèces étudiées sont riches en lipides. En effet, ceci engendre un effet de « dilution biologique » des

contaminants et ne permet donc pas une comparaison avec des espèces moins riches en lipides.

Dans la présente étude, la plus forte augmentation de concentration de BDE-47 a lieu entre les consommateurs primaires et les omnivores, ce qui a déjà été montré par quelques auteurs (Law *et al.*, 2003 ; Voorspoels *et al.*, 2004). En revanche, l'étude de réseaux trophiques aboutissant à des espèces situées à de hauts niveaux dans les chaînes alimentaires a révélé que la principale étape de biomagnification apparaissait entre les poissons et les mammifères marins (Boon *et al.*, 2002).

Dans les plus bas niveaux des réseaux trophiques, des copépodes aux poissons prédateurs en passant par les poissons se nourrissant de plancton, la biomagnification a été démontrée pour les tetra-, penta- et hexa-BDE (Boon *et al.*, 2002 ; Burreau *et al.*, 2000b). Concernant les congénères, autres que BDE-47, détaillés dans cette étude, en prenant en compte le peu de valeurs présentes, aucun d'entre eux ne présentait de profil similaire. Le BDE-99 était celui ayant le profil le plus proche mais il ne semblait pas se biomagnifier dans les flets ni dans les anguilles de Loire. Ceci pourrait être dû à une métabolisation plus importante de ce congénère par ces organismes ou tout simplement par un nombre trop réduit de données sur ce congénère.

La modélisation biologique des BDE-47 et -99 que nous avons réalisé sur la chaîne alimentaire du flet, a donné des résultats satisfaisants entre les valeurs calculées et les valeurs mesurées et a montré qu'il existait une différence de comportement entre ces deux congénères. Des études ont montré des différences considérables entre les espèces au niveau du métabolisme et de l'excrétion du BDE-47 (Darnerud *et al.*, 2001). Ceci pourrait expliquer que, selon les organismes, les valeurs mesurées et les valeurs modélisées soient plus ou moins en accord. L'absorption du BDE-47 et du BDE-99 est similaire chez la moule *Mytilus edulis* mais la vitesse de dépuration du BDE-99 est plus importante (Gustafsson *et al.*, 1999) ce qui pourrait être à l'origine de la surestimation par le modèle des concentrations en BDE-99 excepté dans les crevettes de Seine. Cependant, en Seine, seul un pool de crevettes a pu être analysé, ce qui ne permet pas d'obtenir des valeurs suffisamment représentatives.

Les valeurs de BDE-47 mesurées dans les flets de Seine se sont avérées plus importantes que celles prédites par le modèle. Cette observation pourrait être expliquée par une efficacité d'assimilation plus forte chez ces poissons. En effet, Burreau *et al.* (1997) ont

montré que des brochets contaminés par la nourriture assimilaient 90% du BDE-47 et 60% du BDE-99. Une étude similaire menée sur la truite a montré un pourcentage d'assimilation du BDE-47 de 96 % (Burreau *et al.*, 2000a). Si on applique au modèle du BDE-47 un coefficient d'assimilation de 0,9 pour les poissons, la valeur prédite se rapproche fortement de la valeur mesurée. Ainsi, en Seine, la valeur mesurée est de 9,26 ng g<sup>-1</sup>, ps et la nouvelle valeur prédite avec biotransformation est de 8,43 ng g<sup>-1</sup>, ps. En Loire, le modèle donnait de bons résultats sur les flets. Il pourrait également exister une différence de métabolisme entre les espèces suivant le niveau de contamination du milieu dans lequel elles vivent. Stapleton *et al.* (2004a) ont avancé l'hypothèse qu'en raison de leur proximité avec les sédiments, les poissons benthiques pourraient être capables de dégrader des substances exogènes souvent présentes dans les sédiments : des bactéries associées aux sédiments pourraient être incorporées dans l'estomac et pourraient provoquer un phénomène de dégradation plus important que dans les autres organismes. Ceci expliquerait la surestimation par le modèle des concentrations de BDE-99 dans les flets.

Tous les organismes pourraient être capables de débromer les PBDE mais les taux et l'efficacité de transformation pourraient varier. De plus, le BDE-99 n'est pas le seul congénère de PBDE à être biotransformé. D'autres molécules peuvent subir ce processus et sont susceptibles d'engendrer, à terme, de nombreux mélanges de congénères dans les organismes. Enfin, la débromation n'est pas la seule voie de transformation des PBDE. D'autres voies de biotransformation ont été évoquées par Stapleton *et al.* (2004a) et par Tomy *et al.* (2004) :

- les BDE étant similaires à la thyroxine, ils pourraient subir un phénomène semblable à la déiodination des T4 en T3.
- les enzymes CYP 1A et 2B, associées à l'hydroxylation des contaminants aromatiques tels que les PCB, seraient capables d'engendrer des PBDE hydroxylés.

Malgré les nombreuses approximations entrées dans le modèle, celui-ci reflète assez bien les concentrations de PBDE obtenues dans l'environnement. Il serait cependant nécessaire de développer cette étude afin d'obtenir des données sur le comportement des PBDE dans les organismes aquatiques ainsi que des paramètres physico-chimiques plus proches des environnements étudiés en réalisant des mesures au moment des prélèvements (température de l'eau, concentration en oxygène dissous, concentration en chlorophylle a, fraction de carbone organique, concentration des contaminants dans l'eau, ...). De même, des analyses de sensibilité du modèle pourraient être réalisées en faisant varier différents

paramètres afin d'obtenir la meilleure représentation possible du comportement de ces contaminants dans l'environnement.

### **I.3. Etude des profils de congénères**

Les mélanges techniques de PBDE utilisés dans l'industrie sont facilement reconnaissables grâce aux profils de congénères qu'ils contiennent. Trois grandes classes de mélanges techniques de PBDE sont ou ont été utilisées dans le monde : le decaBDE constitué de 97 à 98 % de Decabromodiphenylether (BDE-209), l'octaBDE constitué de 62 % d'Hexabromodiphenylethers (BDE-153 et BDE-154) et de 34 % et d'Octabromodiphenyl ethers (PBDE avec huit bromes) et le pentaBDE constitué de 50-62 % de Pentabromodiphenyl ethers (BDE-99 et BDE-100) et de 24-38 % de Tetrabromodiphenyl ethers (BDE-47) (WHO/ICPS, 1994b). L'étude des profils de congénères dans l'environnement permet de donner une information sur la source potentielle de contamination du milieu. Afin de pouvoir comparer nos résultats avec les profils des mélanges techniques, deux d'entre eux ont été choisis : le Bromkal 70-5DE qui représente le pentaBDE et le Bromkal 79-8DE qui représente l'OctaBDE. Stapleton *et al.* (2004c) ont avancé le fait que la plupart des échantillons environnementaux analysés montraient des profils de congénères de PBDE très similaires à ceux de la formulation commerciale de PentaBDE, suggérant donc que ce produit était la source de contamination principale. Or, ceci ne semble pas être tout à fait exact puisque des profils assez différents sont observés selon les espèces étudiées et leur lieu de vie. Les profils de congénères de PBDE ont été étudiés dans les différents échantillons analysés à partir des estuaires français et ont été comparés avec les profils des deux mélanges techniques choisis. L'ensemble des profils de congénères obtenus dans cette étude ont été rassemblés dans la figure 48.

**Le BDE-47 était le congénère le plus abondant retrouvé dans tous les échantillons biologiques avec une contribution allant de 49 à 100%. En revanche, dans le sédiment, le congénère majeur était le BDE-209. Plus les espèces avaient une place élevée dans le réseau trophique, plus ils contenaient de congénères variés à des niveaux détectables. Les profils obtenus étaient très variables selon les espèces.**

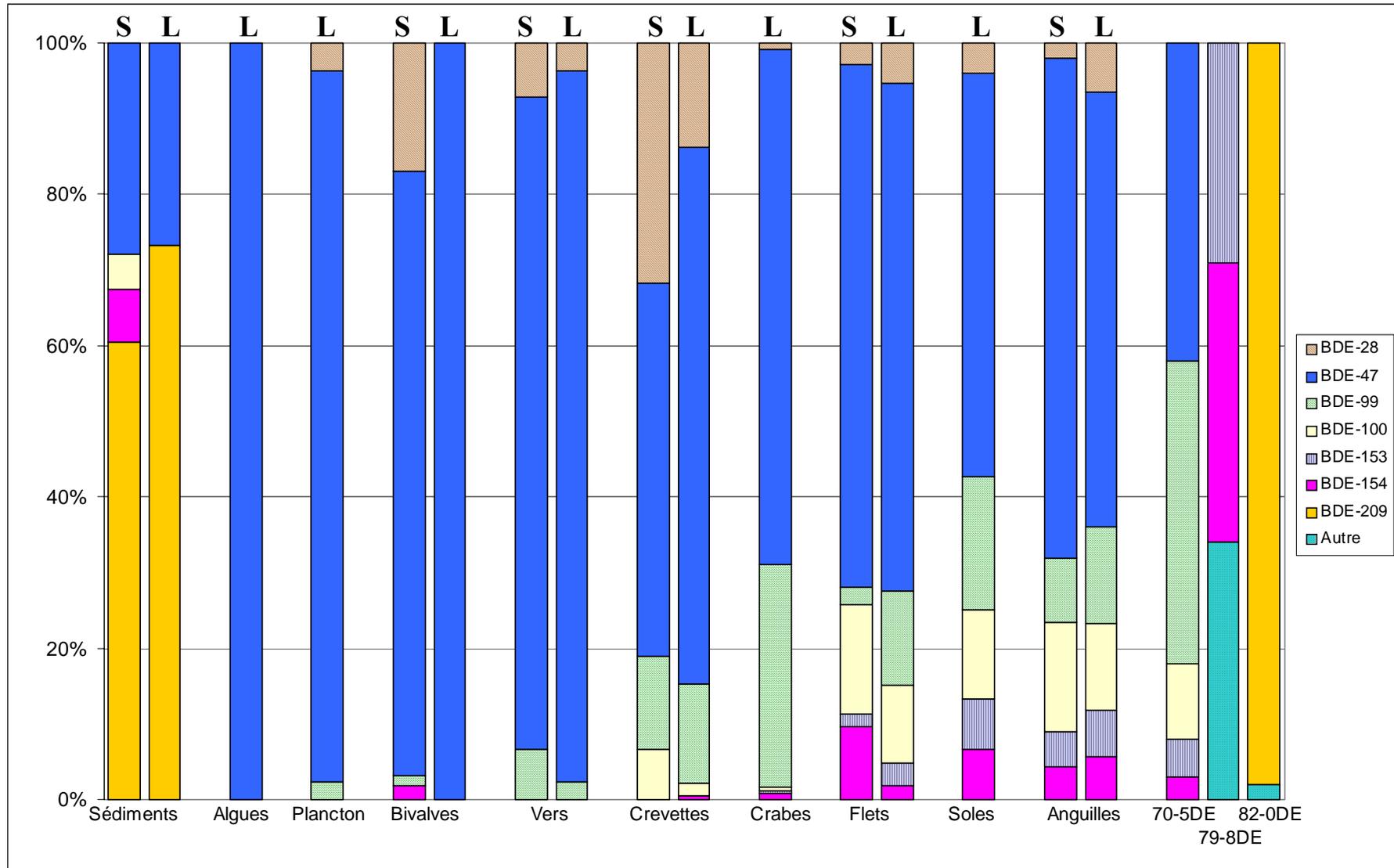
Mis à part les algues et les bivalves de Loire qui ne contenaient que du BDE-47, toutes les autres espèces possédaient plus d'un congénère détectable. Le profil de congénères du

zooplancton était le suivant : 47>28≥99 avec une contribution du BDE-47 de 93%. Seule une autre étude a été réalisée sur les BDE-47, -99 et -100 dans le zooplancton et a montré la prédominance du BDE-47 sur le BDE-99 ce qui est accord avec nos résultats (Law *et al.*, 2003).

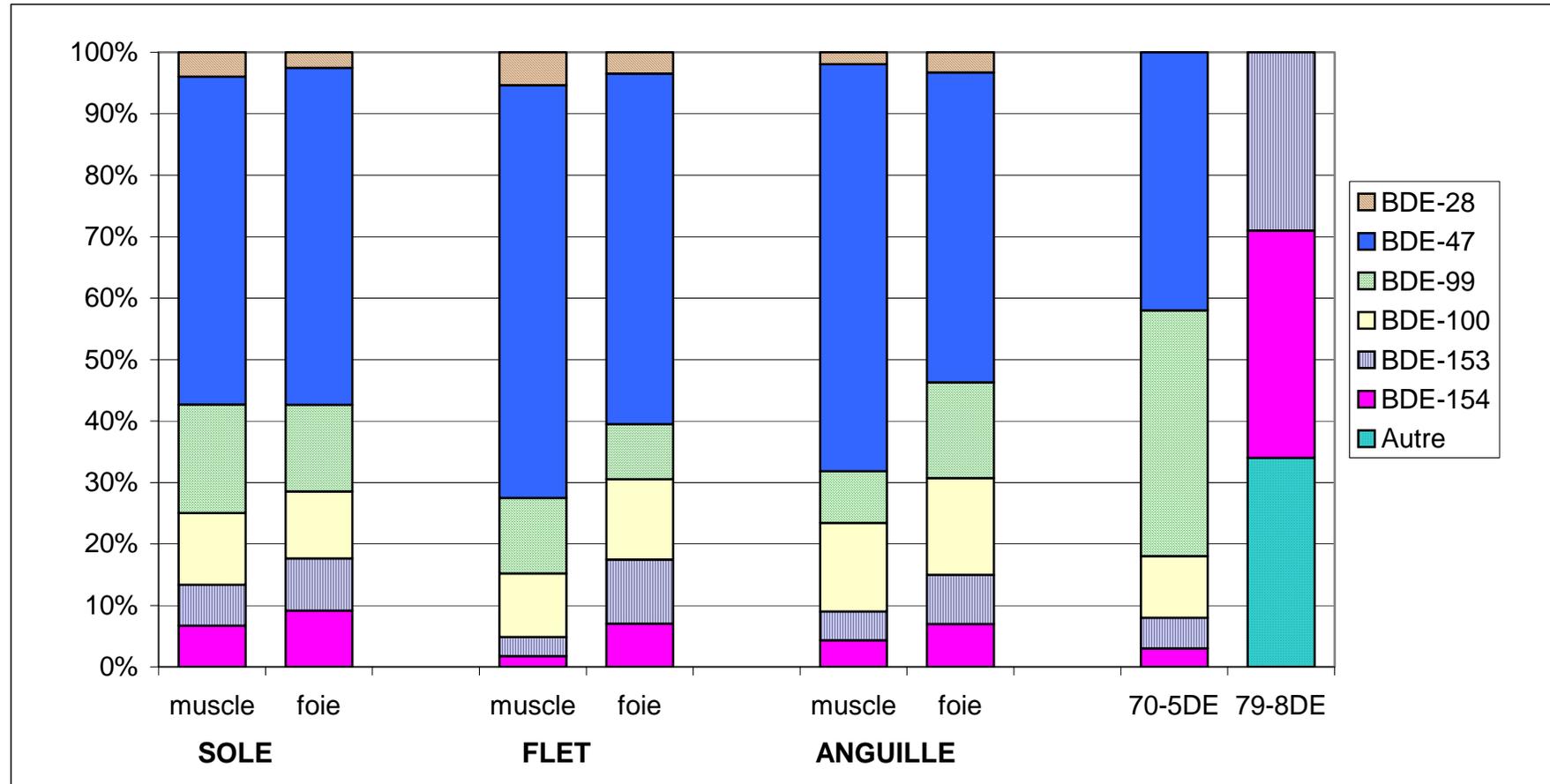
Les bivalves de Seine étaient composés en majorité de BDE-47 suivi par le BDE-28, le BDE-154 et le BDE-99. Les précédentes études ont montré la prédominance du BDE-47, du BDE-99 et du BDE-100. (Allchin *et al.*, 1999 ; De Boer *et al.*, 2000b ; Christensen et Platz, 2002 ; Boon *et al.*, 2002 ; Christensen *et al.*, 2002 ; Bayen *et al.*, 2003 ; De Boer *et al.*, 2003 ; Law *et al.*, 2003 ; Johansson *et al.*, 2004). Seuls Covaci *et al.* (2004) ont étudiés le BDE-28 dans les moules et contrairement à ce qui a été trouvé ici, ce congénère avait la plus faible concentration parmi les PBDE étudiés.

Dans les polychètes intrasédimentaires, le profil était le suivant : BDE-47>BDE-28≥BDE-99. Ce profil est en accord avec celui mis en évidence par Law *et al.* (2003) dans des néréis de l'estuaire du Saint-Laurent. La seule différence observée est la présence de BDE-100 alors que ce congénère n'était pas détecté dans nos échantillons. Cependant, le Saint-Laurent étant un site particulièrement contaminé, les concentrations mesurées étaient bien supérieures aux nôtres et donc le nombre de congénères présents à des niveaux détectables était plus important.

En ce qui concerne les crustacés, les profils obtenus étaient différents dans les crevettes (BDE-47>-28>-99>-100) et dans les crabes (BDE-47>-99). Les résultats obtenus par les autres auteurs dans différents sites plus ou moins contaminés étaient très variables mais le BDE-47 était toujours prédominant (%BDE-47=45-82%) comme dans la présente étude (%BDE-47=49-71%) (Boon *et al.*, 2002 ; Ikonomou *et al.*, 2002 ; Law *et al.*, 2003 ; Voorspoels *et al.*, 2003 ; Bodin *et al.*, 2004).



**Figure 48 :** Profils de PBDE observés dans les échantillons de Seine (S) et de Loire (L) et dans les deux mélanges techniques de PBDE. Pour les poissons, les profils ont été obtenus à partir des concentrations de PBDE mesurées dans les muscles.



**Figure 49** : Profils de PBDE observés dans les échantillons de muscles et de foies de soles, flets et anguilles et dans les deux mélanges techniques de PBDE.

Entre les échantillons de Loire et de Seine très peu de différences de profils de congénères ont été observées entre les différents tissus (muscles et foies) des poissons (figure 49) ce qui est en accord avec l'étude de Christensen *et al.* (2002), d'Ikonomou *et al.* (2002) et de Voorspoels *et al.* (2003). Dans les flets de Seine, le profil moyen obtenu était le suivant BDE-47>-100>-154>-28>-99>-153 alors que dans les flets de Loire le profil était différent : BDE-47>-99>-100>-28>-153>-154 (figure 49). Le profil observé en Loire est très similaire à ceux publiés par Allchin *et al.* (1999) et Schlabach *et al.* (2004) pour des flets d'Angleterre et de Norvège alors que le profil observé en Seine est similaire à ceux mis en évidence par Akutsu *et al.* (2001) et Law *et al.* (2003) dans les flets du Japon et de l'estuaire du Saint-Laurent. La part de BDE-47 dans les flets de Loire et de Seine était similaire à celle rapportée dans les autres études (69% contre 71% en moyenne). Dans les soles (figure 48), le profil était le suivant : BDE-47>-99>-100>-154>-153>-28 et était très proche des profils obtenus dans l'étude de Voorspoels *et al.* (2003). Le BDE-47 représentait 53% des congénères totaux comme dans les autres études (51-55%). Les profils obtenus dans les anguilles de Loire (BDE-47>-99>-100>-28>-153>-154) n'ont pas été trouvés par d'autres auteurs. En revanche, dans les anguilles de Seine (figure 48), les profils obtenus (BDE-47>-100>-99>-153>-154>-28) étaient similaires à ceux obtenus par Law *et al.* (2003), Covaci *et al.* (2004) et Schlabach *et al.* (2004).

En se basant sur le ratio 99:100 (BDE-99:BDE-100), Voorspoels *et al.* (2003) ont mis en évidence que la crevette reflétait le mieux le profil du produit commercial Bromkal 70-5DE qui possède un ratio 99:100 de 84:16. (Sjödin *et al.*, 1998). Le ratio 99:100 obtenu dans cette étude pour les crevettes (en moyenne 76:24) était très similaire à celui du Bromkal. Ce ratio changeait légèrement entre la Loire et la Seine.

Les investigations menées ont montré que les organismes avaient tous des profils de congénères très différents. Ces observations peuvent indiquer que la métabolisation des PBDE est très variable selon les espèces et peut être due à des différences de biodisponibilité, de bioaccumulation ou de biodégradation entre les congénères de PBDE étudiés. Les congénères observés en majorité étaient les BDE-47, BDE-99 et BDE-100. De façon intéressante, ces mêmes congénères sont les principaux composés de la formulation de PentaBDE. Aucun organisme ne possédait un profil similaire à celui de l'OctaBDE (79-8DE) et seuls les poissons montraient des profils proches (quoique jamais similaires) du PentaBDE (70-5DE). Dans toutes les espèces, le taux relatif de BDE-47 était supérieur à celui du Bromkal. Malgré le fait que le PentaBDE est surtout utilisé dans les mousses de polyuréthane (Hardy, 2000),

ses constituants sont les congénères principalement détectés dans les échantillons environnementaux. Pourtant, en 1999, la demande globale en PentaBDE ne représentait que 8500 tonnes (210 tonnes en Europe) et celle en OctaBDE ne représentait que 3825 tonnes (450 tonnes en Europe) ; en revanche, le mélange technique de DecaBDE représentait environ 75% de la consommation mondiale avec 54 800 tonnes (7500 tonnes en Europe) (De Boer *et al.*, 2000a ; Boon *et al.*, 2002). Cette consommation de DecaBDE a, de plus, dû s'accroître depuis suite à l'interdiction de commercialisation et d'emploi des deux autres mélanges. Kierkegaard *et al.* (1999) ont observé une métabolisation intensive après administration d'un produit technique de BDE-209 à des truites arc-en-ciel. Le BDE-209 aurait pu être détecté dans les tissus mais une grande variété de congénères d'hexa- à nona-BDE sont apparus ainsi que du BDE-99. Cette observation indique que l'absorption et la métabolisation du BDE-209 dans les échantillons de cette étude ne peut pas être exclue et que la métabolisation de ce congénère pourrait bien être une raison partielle de la présence de différents congénères de PBDE rencontrés dans les échantillons.

Ainsi, il est difficile d'affirmer que la principale source de PBDE dans les environnements étudiés provient du mélange technique de PentaBDE malgré une certaine ressemblance des profils de congénères. La forte présence des congénères les moins bromés pourrait résulter d'une débromation environnementale des congénères hautement bromés en tetra et pentaBDE (Ikonomou *et al.*, 2002).

#### **I.4. Transfert par l'alimentation**

La présente étude, comme beaucoup d'autres, nous a montré l'omniprésence des PBDE dans l'environnement. Ces contaminants ont d'ailleurs été retrouvés chez les êtres humains à plusieurs reprises (cf chapitre I.2.1.3.2.7.). Il a été établi, comme pour les PCB, que la nourriture était la principale voie d'exposition des organismes aux PBDE (Darnerud *et al.*, 2001).

Parmi les espèces étudiées ici, certaines entrent régulièrement dans notre alimentation. C'est le cas des moules, des crevettes, des crabes, des soles, des flets et des anguilles. La plus forte concentration de PBDE a été trouvée dans les anguilles (11,3 ng g<sup>-1</sup>, pf), puis dans les poissons plats (2,8 ng g<sup>-1</sup>, pf), dans les crabes (0,5 ng g<sup>-1</sup>, pf), dans les crevettes (0,5 ng g<sup>-1</sup>, pf) et dans les moules (0,2 ng g<sup>-1</sup> pf). Les données obtenues sur l'alimentation des Français ont été combinées aux concentrations de PBDE totaux détectées dans nos échantillons afin de déterminer l'apport maximum de PBDE par jour à travers la consommation de produits de la

mer (Ofimer, 2001 ; Ofimer, 2002 ; Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales, 2004 ; Rungis International, 2004). L'apport de PBDE par l'alimentation a été calculé pour une personne de 60 kg consommant une partie de ces produits de façon journalière (tableau LI).

**Tableau LI :** Consommation journalière de quelques produits de la mer (g) et apport maximum en PBDE ( $\text{ng kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) que la consommation de ces produits représente. *Cas 1 : individu consommant principalement des soles ou des flets comme poisson ; cas 2 : individu consommant de façon équilibrée des poissons plats et des anguilles ; cas 3 : individu consommant principalement des anguilles comme poisson.*

Aliment	Consommation journalière (g)	Apport maximum de PBDE ( $\text{ng kg}^{-1} \text{j}^{-1}$ )
Moule	1,5 <sup>(a)</sup>	0,005
Crevette	3 <sup>(b)</sup>	0,03
Sole / Flet	29 <sup>(c)</sup>	1,35
Crabe	0,6 <sup>(d)</sup>	0,005
Anguille	29 <sup>(c)</sup>	5,46
<b>Apport total</b>		<b>cas 1 : 1,4</b> <b>cas 2 : 3,4</b> <b>cas 3 : 5,5</b>

(a) Rungis, 2004 ; (b) Ofimer, 2001 ; (c) Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales, 2004 ; (d) Ofimer, 2002.

Les apports journaliers de PBDE ont été calculés en se basant sur trois habitudes alimentaires différentes :

- Le cas n°1 représente les individus consommant majoritairement des poissons plats ou plus généralement des poissons non gras.
- Le cas n°2 représente les individus consommant de façon équilibrée des poissons non gras et des poissons gras comme les anguilles
- Le cas n°3 représente les individus consommant majoritairement des poissons dits gras comme les anguilles.

La consommation de poissons constitue un apport majeur de PBDE dans l'alimentation française. Suivant le type de poissons consommés, cet apport peut être multiplié par trois. Ainsi une alimentation basée principalement sur un apport de poissons gras sera à l'origine d'une absorption plus importante de PBDE que dans les autres cas.

Ces apports ont été comparés à des études similaires à celle-ci menées dans d'autres pays (tableau LII).

**Tableau LII :** Comparaison des apports de PBDE par l'alimentation dans différentes études. Varié : panier de produits à analyser comprenant généralement de la viande, du poisson, des légumes et des produits laitiers.

PAYS	Aliment	Apports de PBDE		Références
		(ng j <sup>-1</sup> )	ng kg <sup>-1</sup> j <sup>-1</sup>	
Danemark	Hareng	200 - 700	3,3 – 11,7	Darnerud <i>et al.</i> , 1998
Suède	Varié	51	0,85	Darnerud <i>et al.</i> , 2000
Canada	Varié	44	0,7	Ryan et Patry, 2001
Suède	Varié	40,8	0,7	Lind <i>et al.</i> , 2002
Japon	Varié	4,7 - 160	0,1 – 2,7	Ohta <i>et al.</i> , 2002
UK	Aliments d'origine animale	37 - 235	0,6 – 3,9	Wijesekera <i>et al.</i> , 2002
Espagne	Varié	81,9 – 97,3	1,2 – 1,4	Bocio <i>et al.</i> , 2003
UK	Truites	180 - 3360	3 - 56	TOX, 2003
	Anguilles	150 - 840	2,5 - 14	
Allemagne	Varié	13 - 230	0,2 – 3,8	Winter-Sorkina, 2003
Suisse	Corégones	150	2,5	Zennegg <i>et al.</i> , 2003
	Truites	26	0,4	
Finlande	Varié	43 - 45	0,7 – 0,8	Kiviranta <i>et al.</i> , 2004
France	Produits de la mer	84 - 270	1,4 – 4,5	Cette étude

Les apports de PBDE par l'alimentation calculés dans cette étude sont généralement similaires voire légèrement supérieurs à ceux obtenus dans les autres études. Cependant, d'un pays à l'autre, les habitudes alimentaires sont différentes et la plupart des études ont été réalisées à partir de produits provenant de supermarchés. Les aliments d'origine animale analysés doivent donc généralement provenir d'élevages. Zennegg *et al.* (2003) ont montré que les poissons provenant d'élevages étaient bien moins contaminés que ceux provenant de sites naturels ; ceci étant certainement dû à leur alimentation (les poissons d'élevage ne se nourrissent pas d'aliments naturels). Ceci pourrait expliquer les plus faibles apports observés dans ces études. Les apports calculés à partir de poissons provenant de milieux naturels sont, eux, similaires à ceux obtenus dans cette étude pour les plus faibles apports (Zennegg *et al.*, 2003) et bien supérieurs pour les plus forts apports (Darnerud *et al.*, 1998 ; TOX, 2003).

La connaissance des apports de PBDE à travers la nourriture devait être prise en compte dans cette étude afin d'évaluer les risques encourus par les consommateurs humains situés au sommet des réseaux trophiques. Des données sur les niveaux toxicologiques ayant un impact sur la santé humaine ne sont pas disponibles à l'heure actuelle pour tous les PBDE. Cependant, des données existent pour les mélanges techniques de penta-, octa- et deca-BDE (Hellström, 2000). Le niveau sans aucun effet défavorable observé (NOAEL) calculé pour le

penta-BDE est  $450\,000\text{ ng kg}^{-1}\text{ j}^{-1}$  et  $2\,000\,000\text{ ng kg}^{-1}\text{ j}^{-1}$  pour l'octa-BDE. Le niveau avec un faible effet défavorable observé (LOAEL) mesuré pour le deca-BDE est de  $100\,000\,000\text{ ng kg}^{-1}\text{ j}^{-1}$ . De plus, en se basant sur les connaissances actuelles concernant la carcinogénicité des PBDE, leur toxicité au niveau de la reproduction et du développement ainsi que les voies d'exposition de l'homme à ces polluants, Darnerud *et al.* (2001) ont déterminé une LOAEL de  $1\,000\,000\text{ ng kg}^{-1}\text{ j}^{-1}$  pour la somme des PBDE.

La comparaison de ces valeurs avec la quantité totale maximale de PBDE apportée par les aliments étudiés ici montre un important facteur de sécurité (minimum 80 000). En sachant que les apports de PBDE par les produits de la mer représentent entre 33 et 80% des apports totaux de PBDE (Ohta *et al.*, 2001 ; Lind *et al.*, 2002 ; Bocio *et al.*, 2003 ; Kiviranta *et al.*, 2002), le facteur de sécurité reste important. Ce facteur peut également être influencé par d'autres types d'exposition aux PBDE :

- L'émission de PBDE notamment via les appareils électriques comme les ordinateurs ou les télévisions devenus chauds après une utilisation prolongée (Darnerud *et al.*, 2001). Cependant, Wijesekera *et al.* (2002), qui ont quantifié les PBDE dans des échantillons alimentaires et dans l'air intérieur, ont montré que l'alimentation représentait 73% de l'apport journalier moyen de PBDE et l'inhalation ne représentait que 27% de ce même apport.
- La lactation engendre une exposition pour les enfants sachant qu'il existe une forte corrélation positive entre la concentration de PBDE dans le lait maternel et la consommation journalière de poissons (Ohta *et al.*, 2002). Une étude de Darnerud *et al.* (1998) a montré que l'apport de PBDE par le lait maternel représentait  $0,11\text{ ng j}^{-1}$ . Bocio *et al.* (2003) ont également montré que les enfants de moins de 9 ans étaient ceux qui absorbaient le plus de PBDE puis ces apports diminuaient environ de moitié et stagnaient jusqu'à la fin de la vie pour les femmes et jusqu'à 65 ans pour les hommes avant de rediminuer quasiment de moitié pour les plus de 65 ans.

Ainsi, même en prenant en compte tous ces facteurs d'apports, le risque lié à l'ingestion d'aliments contenant des PBDE reste minime. En mangeant des aliments nombreux et variés, les consommateurs français seront faiblement contaminés par les PBDE. En comparaison, une partie de la population du Michigan a consommé environ  $15\text{ à }40\text{ mg kg}^{-1}\text{ j}^{-1}$  de PBB pendant 230 jours lors de l'incident survenu en 1973 et aucun effet n'a été observé chez ces personnes (WHO, 1994a). Ces apports représentaient une prise journalière de  $0,6\text{ }\mu\text{g kg}^{-1}\text{ j}^{-1}$ . Cependant, les PBDE ne sont pas les seuls contaminants présents dans les

aliments et il est nécessaire de tous les prendre en compte pour pouvoir évaluer la toxicité potentielle d'un aliment. De plus, les PBDE pourraient avoir un effet à plus ou moins long terme en engendrant, par exemple, des perturbations endocriniennes chez les consommateurs au bout de plusieurs années.

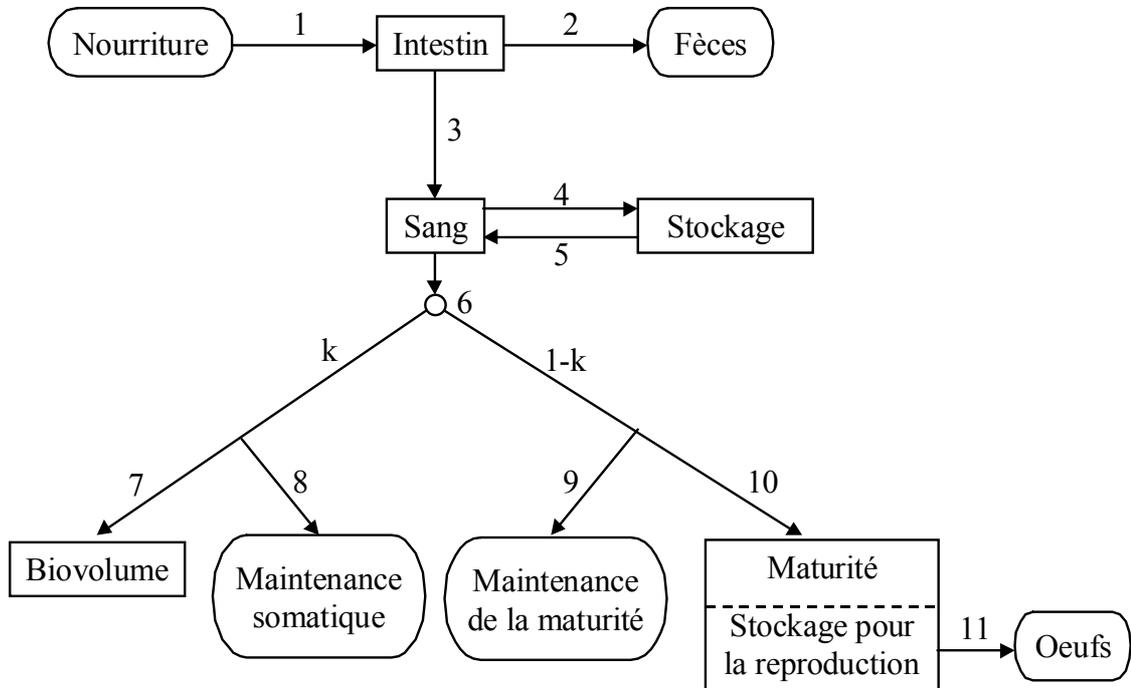
### **I.5. Conséquences écologiques de la présence de contaminants lipophiles dans l'environnement**

La présente étude a mis en évidence le fait que les génotypes des flets exprimaient des capacités différentielles à bioaccumuler certaines familles de polluants, tels que les PCB et le mercure et dans une moindre mesure les PBDE, au sein des populations soumises à des contaminations chroniques.

En fait, les polluants sont susceptibles d'exercer des pressions sélectives sur les populations présentes dans l'environnement et ainsi de réduire la fréquence des génotypes « sensibles » au profit de l'augmentation de la fréquence des génotypes « résistants » (Benton *et al.*, 1994 ; Mulvey *et al.*, 1995 ; Tataru *et al.*, 1999). Chez le flet, la tolérance possible aux contaminants de certains génotypes s'accompagne d'une réduction de leur fécondité et de leur indice de condition, probablement liée au coût de la résistance au stress (Marchand *et al.*, 2004), et également, comme suggéré ici, à une augmentation possible de la charge en polluants dans ces organismes. Il semblerait donc que la survie dans ces systèmes pollués implique des coûts énergétiques pour les poissons et conduise donc à une réduction de la quantité d'énergie disponible pour d'autres fonctions vitales non liées à la contamination (Marchand *et al.*, 2004). Ce coût physiologique de la tolérance au stress chimique pourrait expliquer l'augmentation de fréquence modérée des allèles considérés comme « tolérants » dans les populations de flets en estuaires contaminés.

Cette étude n'a constitué qu'un travail d'exploration préliminaire afin de mieux comprendre la variabilité inter-individuelle de la bioaccumulation; elle ouvre cependant des perspectives de recherches stimulantes pour l'avenir, au niveau de couplages génotypes-charges en polluants-métabolisme énergétique. L'étude des transferts énergétiques entre muscle et gonade et entre foie et gonade chez des flets « résistants » et « sensibles » avant et après leur maturation sexuelle nous paraît ainsi d'un intérêt majeur ; elle permettrait de vérifier l'hypothèse que les individus résistants mobilisent probablement moins d'énergie pour la reproduction. En effet, l'énergie stockée est utilisée à partir de réserves et est allouée à

la croissance, la maintenance et la reproduction (Van der Veer *et al.*, 2001). Une fraction fixe de l'énergie est utilisée pour la maintenance somatique et la croissance alors que le reste de l'énergie est alloué à la maturité, au développement ou à la reproduction (figure 50).



**Figure 50 :** Flux d'énergie à travers un organisme (issu et adapté de Van der Veer *et al.*, 2001). 1 : ingestion, 2 : défécation, 3 : assimilation, 4 : passage de l'énergie dans les réserves, 5 : mobilisation de l'énergie à partir des réserves, 6 : utilisation, 7 : croissance, 8 : maintenance, 9 : maintenance de la maturation, 10 : maturation, 11 : reproduction.

La fraction d'énergie allouée à la reproduction est maximum chez le flet par rapport aux autres poissons plats (0,35 pour le flet ; 0,15 pour la plie ; 0,15 pour la limande et 0,10 pour la sole) (Van der Veer *et al.*, 2001). Une étude du transfert des lipides entre muscle, foie et gonades pourrait être réalisée sur le flet, car la mobilisation des réserves des deux premiers tissus est fondamentale dans la maturation des gonades. Les dosages en parallèle des contaminants dans ces différents compartiments pourraient également donner des informations pertinentes sur leur transfert pendant les périodes de maturation et de ponte afin de savoir s'ils persistent dans l'organisme (engendrant ainsi une augmentation de leur concentration après la ponte) ou s'ils sont transférés dans les œufs (engendrant une diminution de leur concentration après la ponte).

Enfin, en développant les connaissances sur les individus résistants dans les populations à travers des travaux similaires à celui-ci mais à plus grande échelle (notamment avec plus d'individus donc plus de génotypes), l'étude des génotypes dans les poissons

pourrait permettre, à l'avenir, de caractériser les changements de la qualité de l'eau (Laroche *et al.*, 2002).

Les contaminants chimiques seraient également capables d'agir à d'autres niveaux sur les organismes. Les scientifiques suspectent, par exemple, une relation entre la concentration de contaminants dans l'eau et la contamination ainsi que la santé des anguilles qui paraissent très sensibles à la dégradation de la qualité de l'eau (Robinet et Feunteun, 2002). Ceci pourrait expliquer le déclin des populations d'anguilles de l'Atlantique (*A. anguilla* et *A. rostrata*) depuis le début des années 80.

Pendant leur croissance, l'eau et les protéines présentes dans ces poissons sont progressivement remplacées par de la graisse (lipides et lipoprotéines) qui représente en général approximativement 30% du poids du corps chez une anguille argentée de 500 g (Boëtius et Boëtius, 1980, 1985 ; Degani *et al.*, 1986). Ces lipides vont être utilisés pour la migration, la production de gamètes et la ponte. Si les lipides représentent moins de 20% du poids du corps chez les femelles, les anguilles ne pourront pas couvrir tous les besoins engendrés par la migration (Boëtius et Boëtius, 1980). Or une étude a montré que 25% des anguilles capturées en Norvège avaient moins de 20% de lipides et n'étaient donc pas capables de terminer leur migration transocéanique (Bergersen et Klemetsen, 1988). Le pourcentage moyen de lipides déterminé dans les anguilles argentées de Loire (prêtes pour la migration) était d'environ 29% ce qui signifie que ces anguilles avaient stocké assez de réserves pour réaliser leur migration.

En fait, le métabolisme des lipides peut être influencé par différents polluants ayant la capacité de perturber la glande thyroïde (Leatherland *et al.*, 1977 ; Singh, 1989). En effet, les hormones thyroïdes jouent un rôle dans stéroïdogenèse, dans la maturation finale des oocytes et dans la viabilité du recrutement (Robinet et Feunteun, 2002). La ressemblance chimique des PBDE avec la thyroxine (hormone thyroïdienne *cf* I.2.1.3.i. *Etudes toxicologiques – effets thyroïdiens*) pourrait donc avoir un impact sur le métabolisme des lipides chez les anguilles et donc sur leur succès de reproduction. Cependant, ceci ne semble pas être le cas pour les anguilles de l'estuaire de la Loire. En Seine, une étude plus approfondie sur les anguilles argentées pourrait être intéressante car les niveaux de contaminants dans cet estuaire sont plus élevés que dans celui de la Loire (RNO, 1995; IFREMER, 2004a; 2004b ; présente étude).

La bioconcentration et la biomagnification des contaminants organiques augmentent avec l'hydrophobicité du contaminant et sa capacité d'inclusion dans les bicouches lipidiques des membranes cellulaires et dans les membranes des oeufs (Bruggeman *et al.*, 1984 ; Robinet

et Feunteun, 2002). Ainsi, compte tenu de leurs forts taux de lipides, les anguilles vont avoir tendance à accumuler de façon préférentielle des contaminants lipophiles. Leur mode de reproduction les rend également sensibles à la bioaccumulation puisque ces espèces ne se reproduisent qu'une seule fois dans leur vie. Contrairement aux espèces qui se reproduisent plusieurs fois, elles n'ont pas la capacité d'éliminer régulièrement les composés lipophiles accumulés dans les gamètes (Robinet et Feunteun, 2002).

Les PCB, le mercure ou les PBDE seraient donc capables d'avoir un impact sur les populations vivant à leur contact. La multiplication de ces types de polluants lipophiles dans l'environnement pourrait donc, à terme, engendrer des conséquences écologiques majeures dans les écosystèmes aquatiques.

L'estuaire de la Loire peut donc être considéré comme un site faiblement contaminé par les PBDE. L'estuaire de la Seine est plus contaminé mais en restant à des niveaux assez modérés correspondant à une pollution de type industrielle diversifiée. La provenance de ces PBDE dans les environnements étudiés est difficile à identifier puisque aucune source directe n'existe. Ces contaminants pourraient être apportés par plusieurs voies :

- Une voie aérienne : les PBDE libérés lors de l'utilisation d'appareils électriques et électroniques et lors de l'incinération de produits contenant ces molécules se retrouveraient dans l'atmosphère et retomberaient ensuite, soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire des bassins versants, dans l'environnement aquatique.
- Une voie terrestre : le lessivage de sites sur lesquels des appareils contenant ces produits (déchetterie par exemple) seraient situés ou les rejets directs des déchets industriels pourraient apporter une charge de PBDE à l'environnement aquatique.

Cependant, les contaminations mesurées dans les organismes n'atteignent pas des niveaux assez importants pour pouvoir engendrer un quelconque risque pour les consommateurs français.

La toxicité de ces molécules pour l'environnement n'a pas été démontrée dans la présente étude. Cependant, étant donné que les contaminants lipophiles semblent capables d'engendrer, entre autres, des modifications génétiques et des perturbations hormonales aboutissant à des diminutions du succès de la reproduction, il serait nécessaire de poursuivre des recherches dans ce sens dans des milieux aquatiques beaucoup plus contaminés par les PBDE.



# CONCLUSION



En raison de leur persistance non négligeable dans l'eau, les triazines ont été étudiées ici dans le but de rechercher leur présence dans d'autres échantillons du milieu. Elles n'ont été détectées que très occasionnellement dans quelques échantillons de sédiments. Ceci est en accord avec leurs caractéristiques physico-chimiques qui leur confèrent non seulement une faible capacité d'adsorption aux particules sédimentaires mais également un faible pouvoir de bioconcentration dans les organismes.

Les PBB, premiers retardateurs de flamme employés dans l'industrie, n'ont été détectés dans aucun des échantillons analysés. Cette absence peut s'expliquer par le fait que ces molécules ne sont plus fabriquées depuis plusieurs années.

Contrairement aux molécules détaillées ci-dessus, la présence des PBDE a été mise en évidence dans tous les échantillons de sédiments et de biota issus des estuaires d'Authie, de Loire et de Seine. Le BDE-47 était le seul congénère détecté dans tous les échantillons et était majoritaire dans les échantillons de biota. Le BDE-209 a lui été détecté de façon majoritaire dans tous les échantillons de sédiments. L'omniprésence de ces composés avait déjà été mise en évidence dans de nombreux échantillons environnementaux provenant de différentes régions industrialisées à travers le monde mais très peu d'études n'avaient encore été réalisées en France. Le travail mené ici a permis de démontrer leur présence dans les sédiments et les organismes de trois estuaires : l'Authie, la Loire et la Seine. La France ne possédant pas de sources directes de contamination de PBDE, ces contaminants arriveraient dans l'environnement aquatique par des sources diffuses notamment aériennes et terrestres par lessivage. Ceci implique que la contamination de l'environnement est susceptible de toucher tous les milieux même les moins industrialisés. Cependant, les conclusions obtenues sur les estuaires étudiés ici mettent en évidence une relativement faible contamination de ces milieux.

Ce travail a également démontré la capacité de biomagnification de ces produits. Cette propriété engendre une augmentation de leurs concentrations au fur et à mesure de l'élévation dans les réseaux alimentaires. Ainsi, les super prédateurs vont avoir tendance à concentrer fortement ces contaminants. C'est le cas dans cette étude de poissons tels que l'anguille, mais si on se place à un niveau supérieur, l'homme est également une espèce susceptible d'être particulièrement touchée par cette contamination.

La présence dans le milieu aquatique de contaminants lipophiles serait susceptible d'exercer une pression sélective sur les populations de flets et les géotypes « résistants » sembleraient exprimer une bioaccumulation plus forte de contaminants tels que les PCB ou le mercure. De même, ils pourraient être à l'origine d'une réduction du succès de la reproduction pour les organismes vivant à leur contact. Cependant, ceci n'a pas pu être démontré pour les PBDE.

La capacité de biomagnification des PBDE associée à leurs différentes toxicités ont attiré l'attention de la communauté scientifique qui a alerté la Commission Européenne. Cependant, les professionnels travaillant dans l'industrie des retardateurs de flamme ont mis en avant le fait que ces produits permettaient de sauver de nombreuses vies du feu chaque année (sans compter qu'ils représentent un marché considérable de 2,2 milliards de dollars). Les données scientifiques obtenues ont permis d'interdire deux mélanges commerciaux : le PentaBDE et l'OctaBDE mais le mélange technique le plus utilisé, le DecaBDE, n'a pas été inclus dans cette interdiction. En effet, les études menées sur ce produit n'ont pas mis en évidence, jusqu'à aujourd'hui, les dangers qu'il serait susceptible d'engendrer. Des études complémentaires sont cependant en cours.

Ainsi, la France n'est pas épargnée par la contamination des PBDE. Cependant, à l'heure actuelle, les taux de ces polluants dans l'environnement français sont faibles et la consommation d'espèces aquatiques est loin d'engendrer un risque pour la santé humaine.

Un suivi régulier des niveaux de ces contaminants émergents serait indispensable afin de surveiller leur évolution dans les différents compartiments environnementaux. Le BDE-47 serait un bon indicateur de l'état de contamination des espèces vivantes par les PBDE et le BDE-209 serait également intéressant pour les sédiments.

Il semble toutefois évident qu'à terme, ces produits seront définitivement retirés du marché. Cependant, le but ne sera pas de substituer un retardateur de flamme par un autre. L'utilisation du TBBPA, considéré comme moins dangereux que les PBB ou les PBDE, avait été envisagée provisoirement car il est chimiquement lié aux matériaux et est donc moins susceptible d'être relargué dans l'environnement. Pourtant, la Commission Européenne a demandé une évaluation de ce produit dont les résultats seront connus dans le courant de

l'année 2005. Il est toutefois possible de réduire l'utilisation des BFR dans les produits électriques et électroniques en augmentant l'épaisseur du matériau, en augmentant la distance avec les parties génératrices de chaleur ou en protégeant les zones génératrices de chaleur avec des métaux. Il existe d'autres alternatives aux BFR comme par exemple, pour les tissus, un coton à mailles très serrées qui a déjà fait ses preuves.

Il est donc nécessaire que la Commission Européenne mette tout en œuvre afin de n'autoriser la mise sur le marché que de molécules sur lesquelles toutes les données nécessaires à une évaluation fiable du risque auront été obtenues. Ceci permettrait de limiter la découverte, plusieurs années après leur mise sur le marché, de leur caractère néfaste pour l'environnement et pour l'espèce humaine.



**RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**



**A**

- AASER, H.F., JEPPESEN, E. & SØNDERGAARD, M. 1995. Seasonal dynamics of the mysid *Neomysis integer* and its predation on the copepod *Eurytemora affinis* in a shallow hypertrophic brackish lake. *Marine Ecology Progress Series*. **127**, 47-56.
- ABARNOU, A., BURGEOT, T., CHEVREUIL, M., LÉBOULENGER, F., LOIZEAU, V., MADOULET-JAOUEN, A. & MINIER, C. 2000. Les contaminants organiques : quels risques pour le monde vivant ? Fascicule n°13, Editions IFREMER. *Programme Scientifique Seine-Aval*. 35 p.
- ADAMS, N.H., LEVI, P.E. & HODGSON, E. 1990. *In vitro* studies of the metabolism of atrazine, simazine, and terbutryn in several vertebrate species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **38** (6), 1411-1417.
- AFNOR. 2001. Norme NF V 04-403 : Viandes, produits à base de viandes et produits de la pêche – Détermination de la teneur en matière grasse libre. 11p.
- AKUTSU, K., OBANA, H., OKIHASHI, M., KITAGAWA, M., NAKAZAWA, H., MATSUKI, Y., MAKINO, T., ODA, H. & HORI, S. 2001. GC/MS analysis of polybrominated diphenyl ethers in fish collected from the Inland Sea of Seto, Japan. *Chemosphere*. **44** (6), 1325-1333.
- ALAEE, M., LUROSS, J., SERGEANT, D.B., MUIR, D.C.G., WHITTLE, D.M. AND SOLOMON, K. 1999. Distribution of polybrominated diphenyl ethers in the Canadian environment. *Organohalogen Compounds*. **40**, 347-350.
- ALAEE, M., SERGEANT, D.B., IKONOMOU, M.G. & LUROSS, J.M. 2001. A gas chromatography/high-resolution spectrometry (GC/HRMS) method for determination of polybrominated diphenyl ethers in fish. *Chemosphere*. **44** (6), 1489-1495.
- ALAEE, M., PEDRO, A., SJÖDIN, A. & BERGMAN, Å. 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environment International*. **29**, 683-689.
- ALLCHIN, C.R., LAW, R.J. & MORRIS, S. 1999. Polybrominated diphenylethers (PBDEs) in sediments and biota downstream of potential sources in the UK. *Environmental Pollution*. **105**(2), 197-207.
- ALLCHIN, C.R. & MORRIS, S. 2003. Hexabromocyclododecane (HBCD) diastereoisomers and Brominated Diphenyl Ether congener (BDE) residues in edible fish from the rivers Skerne and Tees, UK. *Organohalogen Compounds*. **61**, 41-44.
- ALONGI, D.M. 1998. Coastal Ecosystem Processes. Boca Raton, USA : CRC Press. 419p.
- ANDERSSON, A. & OHLIN, B. 1986. A capillary gas chromatographic multiresidue method for determination of pesticides in fruits and vegetables. *Vär Föda*. **38**, 79-109.
- ANDERSSON, J., FRANSSON, M., NORSTRÖM, S., ROSQVIST, L. & SPJUT, S. 2003. Organohalogenes in the Öresund biota. *Acta Neurotoxicologica*. Ecotoxicology 2. 10p.

- ANDERSSON, Ö. & BLOMKVIST, G. 1981. Polybrominated aromatic pollutants found in fish in Sweden. *Chemosphere*. **10**, 1051-1060.
- ANDERSSON, Ö. & WARTANIAN, A. 1992. Levels of polychlorinated camphenes (Toxaphene), chlordane compounds and polybrominated diphenyl ethers in seals from Swedish waters. *Ambio*. **21**, 550-552.
- ANDERSSON, P.L., WÄGMAN, N., BERG, H.A., OLSSON, P.E. & TYSKLIND, M. 1999. Biomagnification of structurally matched polychlorinated and polybrominated diphenylethers (PCDE/PBDE) in zebrafish (*Danio rerio*). *Organohalogen Compounds*. **43**, 9-12.
- ANONYME. 1997. Report of the results of the one-off survey DIFFCHEM. *Oslo and Paris Commissions, Working Group on Concentrations, Trends and Effects of Substances in the Marine Environment (SIME)*. London, UK.
- ARPINO, P., PRÉVÔT, A., SERPINET, J., TRANCHANT, J., VERGNOL, A. & WITTIER, P. 1995. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. *Ed : Masson, Paris*.
- ASPLUND, L., HORNING, M., PETERSON, R.E., TURESSON, K. & BERGMAN, Å. 1999. Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish from the Great Lakes and Baltic Sea. *Organohalogen Compounds*. **40**, 351-354.
- ATSDR. 2002. Toxicological profile for Polybrominated Biphenyls and Polybrominated Diphenyls Ethers. Draft for Public Comment. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health services, Atlanta, G.A.
- AUST, S.D., MILLIS, C.D. & HOLCOMB, L. 1987. Relationship of basic research in toxicology to environmental standard setting: the case of polybrominated biphenyls in Michigan. *Archives of Toxicology*. **60**, 229.
- AVOINE, J. 1985. Evolution hydrodynamique et sédimentaire de l'estuaire de la Seine ? Actes du colloque : L'estuaire de la Seine, enjeux écologiques et économiques. Gemel-DRAE-CIQV.
- AVOINE, J. 2002. Disponible sur : [www.univ-lehavre.fr/cybernat](http://www.univ-lehavre.fr/cybernat).

## B

- BAILEY, R. & LEBEL, G. 1978. Gas-liquid chromatography of triazine herbicides as heptafluorobutyryl derivatives and some applications to analysis in foods. *Journal of Chromatography*. **161**, 251-257.
- BARCELÓ, D. 1991. Occurrence, handling and chromatographic determination of pesticides in the aquatic environment. *Analyst*. **116**, 681-689.
- BARNAUD, G. & LE BLOCH, F. 2001. Les zones humides de la Manche à l'Atlantique. *Ministère de l'Ecologie et du Développement durable*. Dossier d'information : Entre Terre et Eau - Agir pour les zones humides. Disponible sur :

[www.environnement.gouv.fr/actua/cominfos/dosdir/zonhum9.htm](http://www.environnement.gouv.fr/actua/cominfos/dosdir/zonhum9.htm).

- BATTISTA, M., DI CORCIA, A. & MARCHETTI, M. 1989. Extraction and isolation of triazine herbicides from water and vegetables by a double trap tandem system. *Analytical Chemistry*. **61** (9), 935-939.
- BAYEN, S., THOMAS, G.O., LEE, H.K. & OBBARD, J.P. 2003. Occurrence of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in green mussels (*Perna viridis*) from Singapore, Southeast Asia. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **22** (10), 2432-2437.
- BAYEN, S., LEE, H.K. & OBBARD, J.F. 2004. Determination of polybrominated diphenyl ethers in marine biological tissues using microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*. **1035** (2), 291-294.
- BENTON, M.J., DIAMOND, S.A. & GUTTMAN, S.I. 1994. A genetic and morphometric comparison of *Helisoma trivolvis* and *Gambusia holbrooki* from clean and contaminated habitats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **29**, 20-37.
- BERGANDER, L., KIRKEGAARD, A., SELLSTRÖM, U., WIDEQVIST, U. & DE WIT, C. 1995. Are brominated flame retardants present in ambient air? In : *6<sup>th</sup> Nordic Symposium on Organic Pollutants*. Smygehus (Sweden) : Poster.
- BERGERSEN, R. & KLEMETSEN, A. 1988. Freshwater eel *Anguilla anguilla* (L.) from north Norway, with emphasis on occurrence, food, age, and downstream migration. *Nordic Journal of Freshwater Research*. **64**, 54-66.
- BERGMAN, Å., ÖSTMAN, C., NYBOM, R., SJÖDIN, A., CARLSSON, H., NILSSON, U. & WACHTMEISTER, C.A. 1997. Flame retardants and plasticisers on particulate in the modern computerized indoor environment. *Organohalogen Compounds*. **33**, 414-419.
- BERGMAN, Å., ATHANASIADOU, M., KLASSON-WEHLER, E. & SJÖDIN, A. 1999. Polybrominated environmental pollutants : Human and wildlife exposures. *Organohalogen Compounds*. **37**, 89-92.
- BICKHAM, J.W., SANDHU, S., HEBERT, P.D.N., CHIKI, L. & ATHWAL, R. 2000. Effects of chemical contaminants on genetic diversity in natural populations : Implications for biomonitoring and ecotoxicology. *Mutation Research*. **463**, 33-51.
- BIDLEMAN, T. ALAEE, M. & STERN, G. 2001. New persistent chemicals in the Arctic. In : Kalthok S. (ed.). *Synopsis of Research Conducted Under the 2000-2001 Northern Contaminants Program*. Ottawa, Canada : Department of Indian Affairs and Northern Development. 93-104.
- BIENIEK, D., BAHADIR, M. & KORTE, F. 1989. Formation of heterocyclic hazardous compounds by thermal degradation of organic compounds. *Heterocycles*. **28**, 719-722.
- BOCIO, A., LLOBET, J.M., DOMINGO, J.L., CORBELLA, J., TEIXIDO, A. & CASAS, C. 2003. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Foodstuffs : Human Exposure through the Diet. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**, 3191-3195.

- BODIN, N., ABARNOU, A., DEFOUR, S. & FRAISSE, D. 2004. PCBs, PCDD/Fs and PBDEs in crustaceans from different French coastal sites. *Organohalogen compounds*. **66**, 1733-1738.
- BOËTIUS, I. & BOËTIUS, J. 1980. Experimental maturation of female silver eels, *Anguilla anguilla*. Estimates of fecundity and energy reserves for migration and spawning. *Dana*. **1**, 1-28.
- BOËTIUS, I. & BOËTIUS, J. 1985. Lipid and protein content in *Anguilla anguilla* during growth and starvation. *Dana*. **4**, 1-17.
- BOON, J.P., VAN DER MEER, J., ALLCHIN, C.R., LAW, R.J., KLUNGSØYR, J., LEONARDS, P.E.G., MCKENZIE, C. & WELLS, D.E. 1997. Concentration-dependent changes of PCBs patterns in fish-eating mammals : Structural evidence for induction of cytochrome P450. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **33** (3), 298-311.
- BOON, J.P., LEWIS, W.E., TJOEN-A-CHOY, M.R., ALLCHIN, C.R., LAW, R.J., DE BOER, J., TEN HALLERS-TJABBES, C.C., ZEGERS, B.N. 2002. Levels of Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Flame Retardants in Animals Representing Different Trophic Levels of the North Sea Food Web. *Environmental Science and Technology*. **36**, 4025-4032.
- BORSA, P., BLANQUER, A. & BERREBI, P. 1997. Genetic structure of the flounders *Platichthys flesus* and *P. stellatus* at different geographic scales. *Marine Biology*. **129**, 233-246.
- BOUCHARDY, C. 2002. La Loire – Vallées et vals du grand fleuve sauvage. Delachaux et Niestlé (eds). 288p.
- BRANCHI, I., ENRICO, A. & COSTA, L.G. 2001. A preliminary characterisation of behavioural alterations following perinatal exposure to a polybrominated diphenylether (PBDE99). *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Stockholm, Sweden.
- BREIVIK, K., ALCOCK, R., LI, Y.F., BAILEY, R.E., FIEDLER, H. & PACYNA, J.M. 2004. Primary sources of selected POPs: regional and global scale emission inventories. *Environmental Pollution*. **128**, 3-16.
- BRESLIN, W.J., KIRK, H.D. & ZIMMER, M.A. 1989. Teratogenic evaluation of a polybromodiphenyl oxide mixture in New Zealand white rabbits following oral exposure. *Fundamentals of Applied Toxicology*. **12**, 151-157.
- BRINKMAN, U.A.T.H. & DE KOK, A. 1980. Production, properties, usage. In *Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products*, KIMBROUGH, R.D. (ed), 1-40. Biomedical Press, Elsevier/North Holland, Amsterdam/Oxford/New York.
- BRITISH CROP PROTECTION COUNCIL, ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY. 2000. The Pesticide Manual, 12<sup>th</sup> edition. Tomlin, C. (ed.), 1250 p.

- BROUWER, A., MEERTS, A.T.M., BERGMAN, Å. & BESSELINK, H.T. 2001. Thyroidogenic, estrogenic, and dioxin-like activity of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) *in vitro*. *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Stockholm, Sweden.
- BROWN, P., MCLAUGHIN, J., O'CONNOR, L. & WYMAN, K. 1982. A mathematical model of PCB bioaccumulation in plankton. *Ecological Modelling*. **15**, 159-176.
- BRUGGEMAN, W.A., OPPERHUIZEN, A., WIJBENGA, A. & HUTZINGER, O. 1984. Bioaccumulation of superlipophilic chemicals in fish. *Toxicology and Environmental Chemistry*. **7**, 173-189.
- BRUNSWIG E. 1973. Ventilation and oxygen uptake by three species of nereis (Anelida : Polychaeta). *Marine Progress Series*. **12**, 289-297.
- BSEF. 2000. An introduction to Brominated Flame Retardants. Bromine Science and Environmental Forum (BSEF). 28 p.
- BSEF. 2004. Legislation – Regulatory overview in the EU. Bromine Science and Environmental Forum (BSEF). Disponible sur : [www.bsef-site.com](http://www.bsef-site.com).
- BURREAU, S., AXELMAN, J., BROMAN, D. & JAKOBSSON, E. 1997. Dietary uptake in pike (*Esox lucius*) of some polychlorinated biphenyls, polychlorinated naphthalenes and polybrominated diphenyl ethers administered in natural diet. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **16**, 2508-2513.
- BURREAU, S., BROMAN, D. & ZEBÜHR, Y. 1999. Biomagnification quantification of PBDEs in fish using stable nitrogen isotopes. *Organohalogen Compounds*. **40**, 363-366.
- BURREAU, S., BROMAN, D. & ÖRN, U. 2000a. Tissue distribution of 2,2',4,4'-tetrabromo[14C]diphenyl ether ([14C]-PBDE 47) in pike (*Esox lucius*) after dietary exposure – a time series study using whole body autoradiography. *Chemosphere*, **40**, 977-985.
- BURREAU, S., ZEBUHR, Y., ISHAQ, R. & BROMAN, D. 2000b. Comparison of biomagnification of PBDEs in food chains from the baltic sea and northern atlantic sea. *Organohalogen Compounds*. **47**, 253-255.
- BURREAU, S., ZEBUHR, Y., BROMAN, D. & ISHAQ, R. 2004. Biomagnification of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) studied in pike (*Esox lucius*), perch (*Perca fluviatilis*) and roach (*Rutilus rutilus*) from the Baltic Sea. *Chemosphere*. **55**, 1043-1052.
- BURSE, V.W., NEEDHAM, L.L., LIDDLE, J.A., BAYSE, D.D. & PRICE, H.A. 1980. Interlaboratory comparison for results of analyses for polybrominated biphenyls in human serum. *Journal of Analytical Toxicology*. **4**, 22.
- BUSER, H.R. 1986. Polybrominated dibenzofurans and dibenzo-p-dioxins: thermal reaction products of polybrominated diphenyl ether Flame retardants. *Environmental Science and Technology*. **20**, 404-408.

C

- CAMEL, V. 1998. Supercritical fluid extraction as a useful method for pesticides determination. *Analisis Magazine*. **26** (6), 99-111.
- CARSON, R.L. 1962. Silent spring. Riverside Press, Cambridge, MA, USA.
- CARTÉ, B. & FAULKNER, J. 1981. Polybrominated diphenyl ethers from *Dysidea chlorea* and *Phyllospongia foliascens*. *Tetrahedron*. **37**, 2335-2339.
- CELLULE DE MESURES ET DE BILANS DE LA LOIRE ESTUARIEENNE. 2000. La Loire et son estuaire – Quel fonctionnement aujourd’hui. Planche thématique 4 « Le Fleuve ». Disponible sur : [www.loire-estuaire.org/atlas/index.html](http://www.loire-estuaire.org/atlas/index.html).
- CELLULE DE MESURES ET DE BILANS DE LA LOIRE ESTUARIEENNE. 2002. La dynamique de la vie. La diversité des milieux. Cahiers indicateurs n°1. 7p. Disponible sur : [www.loire-estuaire.org](http://www.loire-estuaire.org)
- CHRISTENSEN, J.H. & PLATZ, J., 2001. Screening of polybrominated diphenyl ethers in blue mussels, marine and freshwater sediments in Denmark. *Journal of Environmental Monitoring*. **3**(5), 543-547.
- CHRISTENSEN, J.H., GLASIUS, M., PÉCSELI, M., PLATZ, J., PRITZL, G., 2002. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in marine fish and blue mussels from Southern Greenland. *Chemosphere*. **47** (6), 631-638.
- CHUANG, J.C., HART, K., CHANG, J.S., BOMAN, L.E., VAN EMON, J.M. & REED, A.W. 2001. Evaluation of analytical methods for determining pesticides in baby foods and adult duplicate-diet samples. *Analytica Chimica Acta*. **444**, 87-95.
- COLBORN, T., VAN SAAL, F.S. & SOTO, A.M. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environmental Health Perspectives*. **101**, 378-384.
- COSTIL, K., DAUVIN, J.C., DUHAMEL, S., HOCDÉ, R., MOUNY, P. & DE ROTON, G. 2002. Patrimoine biologique et chaînes alimentaires. Fascicule n°7, Editions IFREMER. *Programme Scientifique Seine-Aval*. 47 p.
- COVACI, A., DE BOER, J., RYAN, J.J., VOORSPOELS, S. & SCHEPENS, P. 2002a. Distribution of Organobrominated and Organochlorinated Contaminants in Belgian Human Adipose Tissue. *Environmental Research*. **88** (3), 210-218.
- COVACI, A., VAN DE VIJVER, K., DECOEN, W., DAS, K., BOUQUEGNEAU, J.M., BLUST, R. & SCHEPENS, P. 2002b. Determination of organohalogenated contaminants in liver of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded on the Belgian North Sea coast. *Marine Pollution Bulletin*. **44** (10), 1157-1165.

- COVACI, A., BERVOETS, L., HOFF, P., VOORSPOELS, S., VOETS, J., VAN CAMPENHOUT, K., BLUST, R. & SCHEPENS, P. 2004. PBDEs in freshwater mussels and fish from Flanders, Belgium. *Organohalogen Compounds*. **66**, 3848-3855.
- CPP. 2002. Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. *Comité de la Prévention et de la Précaution*. 52 p.
- CRAMER, P.H., AYLING, R.E., THOMBURG, K.R., STANLEY, J.S., REMMERS, J.C., BREEN, J.J. & SCHWEMBERGER, J. 1990. Evaluation of an analytical method for the determination of polybrominated dibenzo-*p*-dioxins / dibenzofurans (PBDD/PBDF) in human adipose. *Chemosphere*. **20**, 821-827.
- CNRS. 2004. La chromatographie : analyse et séparation. *Centre de Recherches sur la conservation des documents graphiques*.  
Disponible sur : [www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosart/decouv/chromato/savoirplus.html](http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/dosart/decouv/chromato/savoirplus.html)
- CREOCÉAN. 2003. Qualité des biocénoses benthiques. Opération 4 du Programme Interrégional Loire Grandeur Nature, Programme 7 : Poursuite des études prospectives, Phase 1 : Acquisition de données. 103 p.
- CSERHATI, T., FORGACS, E., DEYL, Z., MIKSIK, I. & ECKHARDT, A. 2004. Chromatographic determination of herbicide residues in various matrices. *Biomedical Chromatography*. **18**, 350-359.

## D

- DABROWSKA, H., DABROWSKI, L., BIZIUK, M., GACA, J. & NAMISNIK, J. 2003. Solid-phase extraction clean-up of soil and sediment extracts for the determination of various types of pollutants in a single run. *Journal of Chromatography A*. **1003**, 29-42.
- DARNERUD, P.O., ATUMA, S., AUNE, M., CNATTINGIUS, S., WERNROTH, M.L. & WICKLUND-GLYNN, A. 1998. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from primiparous women in Uppsala county, Sweden. *Organohalogen Compounds*. **35**, 411-414.
- DARNERUD, P.O., ATUMA, S., AUNE, M., BECKER, W., WICKLUND-GLYNN, A. & PETERSSON-GRAWÉ, K. 2000. New Swedish estimate of dietary intake of PBDE (a brominated flame retardant), dioxins, PCB and DDT, derived from market basket data. *Toxicological Letters*. **116**, 28.
- DARNERUD, P.O., ERIKSEN, G.S., JÓHANNESSEN, T., LARSEN, P.B. & VILUKSELA, M. 2001. Polybrominated Diphenyl Ethers: Occurrence, Dietary Exposure, and Toxicology. *Environmental Health Perspectives*. **109** (1), 49-68.
- DE BOER, J. 1989. Organochlorine compounds and bromodiphenylethers in livers of Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the North Sea, 1977-1987. *Chemosphere*. **18**, 2131-2140.

- DE BOER, J. 1990. Brominated diphenyl ethers in Dutch freshwater and marine fish. *Organohalogen Compounds*. **2**, 315-318.
- DE BOER, J. & DAO, Q.T. 1993. Overview of bromodiphenylether data in aquatic biota and sediments. *RIVO report C020/93*. Ijmuiden, Netherlands.
- DE BOER, J., WESTER, P.G., KLAMER, H.J.C., LEWIS, W.E. & BOON, J.P. 1998a. Do flame retardants threaten ocean life? *Nature*. **394**, 28-29.
- DE BOER, J., WESTER, P.G., PASTOR I RODRIGUEZ, D., LEWIS, W.E. & BOON, J.P. 1998b. Polybrominated biphenyls and diphenylethers in sperm whales and other marine mammals – a new threat to ocean life? *Organohalogen compounds*. **35**, 383-386.
- DE BOER, J., DE BOER, K., BOON, J.P. 2000a. Polybrominated biphenyls and diphenylethers. Chapter 4, *In: (J. Paasivirta, ed.) The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 3, Part K, New Types of Persistent Halogenated Compounds*, Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp. 62-95.
- DE BOER, J., VAN DE HORST, A. & WESTER, P.G. 2000b. PBDEs and PBBs in suspended particulate matter, sediments, sewage treatment plant in effluents and biota from The Netherlands. *Organohalogen Compounds*. **47**, 85-88.
- DE BOER, J., VAN DER ZANDE, T.E., PIETERS, H., ARIESE, F., SCHIPPER, C.A., VAN BRUMMELEN, T. & VETHAAK, A.D. 2001. Organic contaminants and trace metals in flounder liver and sediment from the Amsterdam and Rotterdam harbours and off the Dutch coast. *Journal of Environmental Monitoring*. **3**, 386-393.
- DE BOER, J., WESTER, P.G., VAN DE HORST, A. & LEONARDS, P.E.G. 2003. Polybrominated diphenyl ethers in influents, suspended particulate matter, sediments, sewage treatment plant and effluents and biota from the Netherlands. *Environmental Pollution*. **122**, 63-74.
- DE CARLO, V.J. 1979. Studies on brominated chemicals in the environment. *Annals of the New York Academy of Science*. **320**, 678-681.
- Décision N° 2455/2001/CE du Parlement Européen et du Conseil du 20 novembre 2001 établissant la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau et modifiant la directive 2000/60/CE. *Journal Officiel des Communautés Européennes*. L331, 1-5.
- DEGANI, G., HAHAMU, H. & LEVANON, D. 1986. The relationship of eel *Anguilla anguilla* (L.) body size, lipid, protein, glucose, ash, moisture composition and enzyme activity (aldolase). *Comparative Biochemistry and Physiology*. **86A** (4), 739-745.
- DE LA CAL, A., ELJARRAT, E. & BARCELÓ, D. 2003. Determination of 39 polybrominated diphenyl ether congeners in sediment samples using fast selective pressurized liquid extraction and purification. *Journal of Chromatography A*. **1021** (1-2), 165-173.
- DESPREZ, M. & DUPONT, J.P. 1985. Impact biosédimentaire d'aménagements portuaires en estuaire de Seine. Actes du colloque national CNRS 24-26 avril 1985 : La baie de Seine, fonctionnement, conséquences en matière d'environnement et d'utilisation de la mer. Greco Manche, Université de Caen. **2**, 273-280.

- DE WIT, C. 2000. Brominated Flame Retardants. *Swedish Environmental Protection Agency. Report 5065*. 95 p.
- DE WIT, C. 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere*. **46**, 583-624.
- Directive 2002/95/CE du Parlement Européen et du Conseil du 27 janvier 2003 relative à la limitation de l'utilisation de certaines substances dangereuses dans les équipements électriques et électroniques. Journal Officiel de l'Union Européenne. L37, 19-23.
- Directive 2003/11/CE du Parlement Européen et du Conseil du 6 février 2003 portant modification de la directive 76/769/CEE du Conseil relative à la limitation de la mise sur le marché et de l'emploi de certaines substances et préparations dangereuses (pentabromodiphényléther, octabromodiphényléther). Journal Officiel de l'Union Européenne. L42, 45-46.
- DOBRONIAK, C. 2000. Géomorphologie, hydrodynamique et écologie d'un estuaire tempéré macrotidal : l'Authie, Manche Orientale, France. Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale.
- DOBRONIAK, C. & ANTHONY, E. 2002. Comment évolue un estuaire : l'exemple de l'Authie. *La Lettre de Sea-River*. 53.  
Disponible sur : [www.sea-river-news.com/53\\_6.htm](http://www.sea-river-news.com/53_6.htm)
- DODDER, N.G., STRANDBERG, B. & HITES, R.A. 2000. Concentrations and spatial variations of polybrominated diphenyl ether in fish and air from the Northeastern United States. *Organohalogen compounds*. **47**, 69-72.
- DODDER, N.G., STRANDBERG, B. & HITES, R.A. 2000. Concentrations and spatial variations of polybrominated diphenyl ethers and several organochlorine compounds in fishes from the Northeastern United States. *Environmental Science and Technology*. **36**, 146-151.
- DURBIN, E.G. & DURBIN, A.G. 1978. Length and weight relationships of *Acartia clausii* from Narragansett Bay, R.I. *Limnology and Oceanography*. **23**, 958-969.

## E

- EHC-152. 1994. Polybrominated biphenyls. International Program on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- EISLER, R. 1989. Atrazine hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Biological Report 85(1.8) – Contaminant Hazard Reviews Report No. 18. *U.S. Fish and Wildlife Service*. 34 p.  
Disponible sur : [www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/CHR\\_18\\_Atrazine.pdf](http://www.pwrc.usgs.gov/infobase/eisler/CHR_18_Atrazine.pdf)

- EL DAREER, S.H., KALIN, J.R., TILLERY, K.F. & HILL, D.L. 1987. Disposition of decabromobiphenyl ether in rats dosed intravenously or by feeding. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. **22**, 404-415.
- ELJARRAT, E., DE LA CAL, A., RALDUA, D., DURAN, C. & BARCELO, D. 2004. Occurrence and Bioavailability of Polybrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Sediment and Fish from the Cinca River, a Tributary of the Ebro River (Spain). *Environmental Science and Technology*. **38** (9), 2603-2608.
- ELY, C.B., FRANS, R.E., LAVY, T.L., TALBERT, R.E. & MATTICE, J.D. 1993. Determining diuron, simazine, and methiocarb residues in highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*). *Hortscience*. **28** (1), 33-35.
- ENVIRONMENT AGENCY. 1999. Pesticides in aquatic environment 1997. 81 p.
- ENVIRONMENT AGENCY JAPAN. 1991. Chemicals in the environment. *Report on Environmental Survey and Wildlife Monitoring of Chemicals in F.Y. 1988 and 1989*. Environmental Agency, Japan.
- ERIKSSON, A.S., GUNNARSSON, H., HAMMAR, E. & NILSSON, T. 2002. How persistent is our meat ? PCBs and PBDEs in livers from the different animals. *Journal of Scientific Splendour*. 1-5.
- ERIKSSON, J., MARSH, G. & BERGMAN, Å. 2001. Photo decomposition of brominated diphenyl ethers in methanol/water. *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Stockholm, Sweden.
- ERIKSSON, P. & FREDRIKSSON, A. 1996. Developmental neurotoxicity of four ortho-substituted polychlorinated biphenyls in the neonatal mouse. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. **1**, 155-165.
- ERIKSSON, P., JAKOBSSON, E. & FREDRIKSSON, A. 1998. Developmental neurotoxicity of brominated flame-retardants, polybrominated diphenyl ethers and tetrabromo-bis-phenol A. *Organohalogen Compounds*. **35**, 375-377.
- ERIKSSON, P., VIBERG, H., JAKOBSSON, E., ÖRN, U. & FREDRIKSSON, A. 1999. PBDE,2,2',4,4',5-pentabromodiphenylether, causes permanent neurotoxic effects during a defined period of neonatal brain development. *Organohalogen compounds*. **40**, 333-336.
- EZZELLE, J. 2000. Accelerated solvent extraction (ASE) of pesticide residues in food products. *GIT Laboratory Journal*. **1**, 17-18.

## F

- FARRELL, T.J. 1980. Glass capillary gas chromatography of chlorinated dibenzofurans, chlorinated anisoles, and brominated biphenyls. *Journal of Chromatographic Science*. **18**, 10-17.
- FISHER, R.A. 1935. The design of Experiments. Oliver and Boyd (*eds*). Edinburgh. 248 p.
- FORBES, V.E. & FORBES, T.L. 1994. Ecotoxicology in Theory and Practice. *Ecotoxicology Series 2*. Chapman & Hall (*eds*), Londres, Royaume-Uni. 247 p.
- FOURQUREAN, J.W., WEBB, K.L., HOLLIBAUGH, J.T. & SMITH, S.V. 1997. Contributions of the plankton community to ecosystem respiration, Tomales Bay, California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. **44**, 493-505.
- FOURNIER, J.B., EL HOURCH, M., TAGLIONI, J.P. & FOURNIER, J. 1998. Application des plans d'expériences à l'analyse de pesticides dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. *Analisis Magazine*. **26**, 8, 44-52.
- FOURNIER, J.B., EL HOURCH, M. & FOURNIER, J. 1999a. An evaluation for the use of laminar C<sub>14</sub> disks employed as part of the solid phase extraction process. Simultaneous capillary gas chromatography – mass spectrometry determination of triazines, organochlorine pesticides and polyaromatic hydrocarbons. *Analisis*. **27**, 726-734.
- FOURNIER, J.B., EL HOURCH, M. & FOURNIER, J. 1999b. Evaluation d'une méthode d'analyse de pesticides dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse après extraction en phase solide. *Cahiers de l'Association Scientifique Européenne pour l'Eau et la Santé*. **4**, 43-52.
- FOWLES, J.R., FAIRBROTHER, A., BAECHE-STEPPAN, L. & KERKVLIT, N. 1994. Immunologic and endocrine effects of flame retardant pentabromodiphenylether (DE-71) in C57BL/6J mice. *Toxicology*. **86** (1-2), 49-61.

## G

- GAO, J.P., MAGUHN, J., SPITZAUER, P. & KETTRUP, A. 1997. Distribution of pesticides in the sediment of the small Teufelsweiher pond (southern Germany). *Water Research*. **31** (11), 2811-2819.
- GFRERER, M., MARTENS, D., GAWLIK, B.M., WENZL, T., ZHANG, A., QUAN, X., SUN, C., CHEN, J., PLATZER, B., LANKMAYR, E. & KETTRUP, A. 2002. Triazines in the aquatic systems of the Eastern Chinese Rivers Liao-He and Yangtse. *Chemosphere*. **47**, 455-466.
- GILLESPIE, R.B. & GUTTMAN, S.I. 1993. Correlation between water quality and frequencies of allozyme genotypes in spotfin shiner (*Notropis spilopterus*) populations. *Environmental Pollution*. **81**, 147-150.

- GLOTFELTY, D.E., TAYLOR, A.W., TURNER, B.C. & ZOLLER, W.H. 1984. Volatilization of surface-applied pesticides from fallow soil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. **32**, 638-643.
- GOBAS, F.A.P.C. & MORRISON, H.A. 2000. Bioconcentration and biomagnification in the aquatic environment. In *Handbook of Property Estimation Methods for Chemicals : Environmental and Health Sciences*, BOETHLING, R.S. & MACKAY, D. (eds). Lewis, Boca Raton, Florida, USA. 189-231.
- GOUIN, T., THOMAS, G.O., COUSINS, I., BARBER, J., MACKAY, D. & JONES, K.C. 2002. Air-surface exchange of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls. *Environmental Science and Technology*. **36**, 1426-1434.
- GUERIN, A. 2003. La Normandie. La géologie, les milieux, la faune, la flore, les hommes. Delachaux et Niestlé (ed). 360p.
- GUÉZENNEC, L., ROMAÑA, L.A., GOUJON, R. & MEYER, R. 1999. Seine Aval : un estuaire et ses problèmes. Programme Seine Aval – IFREMER. 37p.
- GUNKEL, G. 1981. Bioaccumulation of a herbicide (atrazine, *s*-triazine) in the whitefish (*Coregonus fera* J.) : uptake and distribution of the residue in fish. *Archiv für Hydrobiologie Suppl.* **59**(2/3), 252-287.
- GUNKEL, G. & STREIT, B. 1980. Mechanisms of bioaccumulation of a herbicide (atrazine, *s*-triazine) in a freshwater mollusc (*Ancylus fluviatilis* Müll.) and a fish (*Coregonus fera* Jurine). *Water Research*. **14**, 1573-1584.
- GUSTAFSSON, K., BJÖRK, M., BURREAU, S. & GILEK, M. 1999. Bioaccumulation kinetics of brominated flame retardants (polybrominated diphenyl ethers) in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. **18**, 1218-1224.

## H

- HAGENMAIER, H., SHE, J., BENZ, T., DAWIDOWSKY, N., DUSTERHÖFT, L. & LINDING, C. 1992. Analysis of sewage sludge for polyhalogenated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and diphenyl ethers. *Chemosphere*. **25**, 1457-1462.
- HAGLUND, P.S., ZOOK, D.R., BUSER, H.R. & HU, J. 1997. Identification and quantification of polybrominated diphenyl ethers and methoxy-polybrominated diphenyl ethers in Baltic biota. *Environmental Science and Technology*. **31**(11), 3281-3287.
- HAIRSTON, D.W. 1995. Flame retardants: Cool under fire. *Chemical Engineering*. **102**, 9, 65.
- HALE, R.C., LA GUARDIA, M.J., HARVEY, E.P., MATTESON MAINOR, T., DUFF, W.H. & GAYLOR, M.O. 2001. PolyBrominated Diphenyl Ether Flame Retardants in Virginia Freshwater Fishes. *Environmental Science and Technology*. **35** (23), 4585-4591.

- HALE, R.C., LA GUARDIA, M.J., HARVEY, E.P. & MAINOR, T.M. 2002. The potential role of fire retardant-treated polyurethane foam as a source of brominated diphenyl ethers to the US environment. *Chemosphere*. **46**, 729-735.
- HALE, R.C., ALAEE, M., MANCHESTER-NEESVIG, J.B., STAPLETON, H.M. & IKONOMOU, M.G. 2003. Brominated diphenylethers in fishes, sediments and sewage sludges in the U.S.A. and Canada. *Environment International*. **29** (6), 771-779.
- HALL, R.J. 1987. Impact of pesticides on bird populations. *In Silent spring revisited*, MARCO *et al.* (eds), 85-111. American Chemical Society, Washington, DC, USA.
- HALLGREN, S. & DARNERUD, P.O. 1998. Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and chlorinated paraffins (CPs) on thyroid hormone levels and enzyme activities in rats. *Organohalogen Compounds*. **35**, 391-394.
- HANDAYANI, D., EDRAHA, R.A., PROKSCH, P., WRAY, V., WITTE, L., VAN SOEST, R.W.M., KUNZMANN, A. & SOEDARSONO, R. 1997. Four new bioactive polybrominated diphenyl ethers of the sponge *Dysidea herbacea* from West Sumatra, Indonesia. *Journal of natural products*. **60**, 1313-1316.
- HANSEN, P.J., BJORNSEN, P.K. & HANSEN, B.W. 1995. Zooplankton grazing and growth : scaling within the 2-2000  $\mu\text{m}$  body size range. *Limnology and Oceanography*. **42**, 687-704.
- HARDING, G.C. 1986. Organochlorine dynamics between zooplankton and their environment, a reassessment. *Marine Ecology Progress Series*. **33**, 167-191.
- HARDY, M.L. 2000. Distribution of Decabromodiphenyl oxide in the environment. *Organohalogen Compounds*. **47**, 41-44.
- HARTONEN, K., BØWADT, S., HAWTHORNE, S. & RIEKKOLA, M.L. 1997. Supercritical fluid extraction with solid-phase trapping of chlorinated and brominated pollutants from sediment samples. *Journal of Chromatography A*. **774**, 229-242.
- HAUSER, B., SCHELLIN, M. & POPP, P. 2004. Membrane-Assisted Solvent Extraction of Triazines, Organochlorine, and Organophosphorus Compounds in Complex Samples Combined with Large-Volume Injection-Gas Chromatography/Mass Spectrometric Detection. *Analytical Chemistry*. **76** (20), 6029-6038.
- HAYES, W.J. 1991. Dosage and other factors influencing toxicity. *In Handbook of Pesticide Toxicology*, HAYES & LAWS (eds), 39-105. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- HEDGECOTT, S. 1996. Proposed environmental quality standards for atrazine and simazine in water. Final report for the DoE. *WRc Report No. DoE*. 2316p.
- HEITHAUS, M.R. & LAUSHMAN, R.H. 1997. Genetic variation and conservation of stream fishes : influence of ecology, life history, and water quality. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **54**, 1822-1836.

- HELLSTRÖM, T. 2000. Brominated Flame Retardants (PBDE and PBB) in Sludge – a Problem? Report N° M 113. *The Swedish Water and Wastewater Association*. 28p.
- HERZKE, D., GABRIELSEN, G.W., EVENSET, A. & BURKOW, I.C. 2003. Polychlorinated camphenes (toxaphenes), polybrominated diphenylethers and other halogenated organic pollutants in glaucous gull (*Larus hyperboreus*) from Svalbard and Bjørnøya (Bear Island). *Environmental Pollution*. **121**, 293-300.
- HINDERSINN, R.R. 1990. Historical aspects of polymer fire retardance. In *Fire and Polymers Hazard Identification and Prevention*, 415, Nelson, G.L. (Ed), American Chemical Society Symposium Series, New York.
- HOLM, G., NORRGREN, L., ANDERSSON, T. & THURÉN, A. 1993. Effects of exposure to food contaminated with PBDE, PCN or PCB on reproduction, liver morphology and cytochrome P450 activity in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Aquatic Toxicology*. **27**, 33-50.
- HUGHES, G.M. & MORGAN, M. 1973. The structure of fish gills in relation to their respiratory function. *Biological Reviews*. **48**, 419-475.
- HUWE, J.K., LORENTZEN, M., THURESSON, K. & BERGMAN, Å. 2002. Analysis of mono- to deca-brominated diphenyl ethers in chickens at the part per billion level. *Chemosphere*. **46**, 635-640.
- HYÖTYLÄINEN, T. & HARTONEN, K. 2002. Determination of brominated flame retardants in environmental samples. *Trends in analytical chemistry*. **21** (1), 13-29.

## I

- IARC – International Agency for Research on Cancer. 1991. Atrazine. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. **53**, 441-466.
- IFEN. 2002. Les pesticides dans les eaux. Bilan annuel 2002. *Etudes et travaux n° 36*. 25 p. Disponible sur : [www.ifen.fr/pestic/2002/pestic2002.pdf](http://www.ifen.fr/pestic/2002/pestic2002.pdf)
- IFREMER, 2004a. Résultats de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral. Départements : Morbihan, Loire-Atlantique et Vendée. Laboratoire Côtier Morbihan - Pays de Loire. 115p.  
Disponible sur : [www.ifremer.fr/envlit/pf/surveillancedpdf/bull2004/bul\\_mpl\\_2004.pdf](http://www.ifremer.fr/envlit/pf/surveillancedpdf/bull2004/bul_mpl_2004.pdf)
- IFREMER, 2004b. Résultats de la Surveillance de la Qualité du Milieu Marin Littoral. Départements : Seine Maritime, Eure, Calvados et Manche. Laboratoire Environnement et Ressources de Normandie. 81p.  
Disponible sur : [www.ifremer.fr/envlit/pf/surveillancedpdf/bull2004/bul\\_peb\\_2004.pdf](http://www.ifremer.fr/envlit/pf/surveillancedpdf/bull2004/bul_peb_2004.pdf)
- IKONEN, R., KANGAS, J. & SAVOLAINEN, H. 1988. Urinary atrazine metabolites as indicators for rats and human exposure. *Toxicological Letter*. **44**, 109-112.

- IKONOMOU, M.G., CREWE, N., NE, T. & FISCHER, M. 1999. Polybrominated diphenyl ethers in biota samples from coastal British Columbia, Canada. *Organohalogen Compounds*. **40**, 341-345.
- IKONOMOU, M.G., FISCHER, M., HE, T., ADDISON, R.F. & SMITH, T. 2000. Congener patterns, spatial and temporal trends of polybrominated diphenyl ethers in biota samples from the Canadian west coast and the Northwest Territories. *Organohalogen Compounds*. **47**, 77-80.
- IKONOMOU, M.G., RAYNE, S., FISCHER, M., FERNANDEZ, M.P. & CRETNEY, W. 2002. Occurrence and congener profiles of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental samples from coastal British Columbia, Canada. *Chemosphere*. **46** (5), 649-663.
- IRVINE, K., SNOOK, D. & MOSS, B. 1995. Life history of *Neomysis integer*, and its copepod prey, *Eurytemora affinis*, in a eutrophic and brackish shallow lake. *Hydrobiologica*. **304**, 59-76.
- ITOH, A. 1999. Handbook of the Statistic in Japan. *Edited by* : Department of General Affairs of Japanese Government, Tokyo.

## J

- JAFFE R., STEMLER E.A., EITZER B.D. & HITES, R. 1985. Anthropogenic, polyhalogenated, organic compounds in sedentary fish from Lake Huron and Lake Superior tributaries and embayments. *Journal of Great Lakes Research*. **11** (2), 156-162.
- JAKOBSSON, K., THURESSON, K., RYLANDER, L., SJÖDIN, A., HAGMAR, L. & BERGMAN, Å. 2002. Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A among computer technicians. *Chemosphere*. **46**, 709-716.
- JANNSEN, H.G. & LOU, X. 1999. Supercritical fluid extraction in organic analysis. *Extraction methods in organic analysis*. Ed. HANDLEY, A.J. Sheffield Academic Press Ltd. 100-145.
- JANSSON, B., ASPLUND, L. & OLSSON, M. 1987. Brominated flame retardants-ubiquitous environmental pollutants? *Chemosphere*. **16**, 2353-2359.
- JANSSON, B., ANDERSSON, R., ASPLUND, L., BERGMAN, Å., LITZÉN, K., NYLUND, K., REUTERGÄRDH, L., SELLSTRÖM, U., UVEMO, U.B., WAHLBERG, C. & WIDEQVIST, U. 1991. Multiresidue method for the gas-chromatographic analysis of some polychlorinated and polybrominated pollutants in biological samples. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. **340**, 439-445.
- JANSSON, B., ANDERSSON, R., ASPLUND, L., LITZÉN, K., NYLUND, K., SELLSTRÖM, U., UVEMO, U.B., WAHLBERG, C., WIDEQVIST, U., ODSJÖ, T. & OLSSON, M. 1993. Chlorinated and brominated persistent organic compounds in biological samples from the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **12**, 1163-1174.

- JOHANSSON, I., MOISAN, K., MUNSCHY, C., TRONCZYNSKI, J. 2004. Levels and trends of past 20 years of polybrominated diphenylethers in mussels from the Seine estuary, France. The Third International Workshop on Brominated Flame Retardants BFR 2004, Toronto, Ontario, Canada. 6-9 June 2004.  
Disponible sur :  
[www.bfr2004.com/Individual%20Papers/BFR2004%20Abstract%20049%20Johansson.pdf](http://www.bfr2004.com/Individual%20Papers/BFR2004%20Abstract%20049%20Johansson.pdf).
- JONES, T.W., KEMP, W.M., ESTES, P.S. & STEVENSON, J.C. 1986. Atrazine uptake, photosynthetic inhibition, and short-term recovery for the submersed vascular plant, *Potamogeton perfoliatus* L. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **15**, 277-283.
- JONSSON, P. & KANKAANPÄÄ, H. 1999. Distribution of organic contaminants in the Baltic Sea sediments. In: Perttilä, M. (ed.) *Contaminants on the Baltic Sea sediments – Results from the 1993 ICES/HELCOM Sediment Baseline Study*.

## K

- KENNISH, M.J. 2002. Environmental threats and environmental future of estuaries. *Environmental Conservation*. **29**, 78-107.
- KHOLKUTE, S.D., RODRIGUEZ, J. & DUKELOW, W.R. 1994. The effects of polybrominated biphenyls and perchlorinated biphenyls on *in vitro* fertilization in the mouse. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **26**, 208-211.
- KIERKEGAARD, A., SELLSTRÖM, U., DE WIT, C., JANSSON, B. & OLSSON, M. 1993. Time trend studies of polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in biological material from the Swedish environment. *5<sup>th</sup> Nordic Symposium on Organic Pollutants*. Röros, Norway.
- KIERKEGAARD, A., SELLSTRÖM, U., WIDEQVIST, U., BERGANDER, L., WINBERG, A. & ALSBERG, T. 1996. Analytical results regarding chlorinated paraffins (CP) and brominated flame retardants (BFRs) within the DIFFCHEM project, reference number RIKZ/IT-95.151X. Final report.
- KIERKEGAARD, A., SELLSTRÖM, U., BIGNERT, A., OLSSON, M., ASPLUND, L., JANSSON, B. & DE WIT, C. 1999. Temporal trends of a polybrominated diphenyl ether (PBDE), a methoxylated PBDE and hexabromocyclododecane (HBCD) in Swedish biota. *Organohalogen Compounds*. **40**, 367-370.
- KIVIRANTA, H., OVASKAINEN, M.L. & VARTIAINEN, T. 2004. Market basket study on dietary intake of PCDD/FS, PCBs, and PBDES in Finland. *Environment International*. **30**, 923-932.
- KLAMER, H.J.C., VILLERIUS, L.A., LEONARDS, P.E.G. & BAKKER, J.F. 2001. Brominated flame retardants in Dutch North sea surface sediments. *Second International Workshop on Brominated Flame Retardants BFR2001*, Stockholm, Sweden. 329-331.

- KLASSON-WEHLER, E., HOVANDER, L. & BERGMAN, Å. 1997. New organohalogens in human plasma – identification and quantification. *Organohalogen Compounds*. **33**, 420-425.
- KOMANG RALEBITSO, T., SENIOR, E. & VAN VERSEVELD, H.W. 2002. Microbial aspects of atrazine degradation in natural environments. *Biodegradation*. **13**, 11-19.
- KOMPASS, 2004. Disponible sur : [www.kompass.com](http://www.kompass.com).
- KRÜGER, C. 1988. Polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers detection and quantitation in selected foods. Thesis, Munster university, Germany.
- KUCH, B., HAGENMAIER, H. & KÖRNER, W. 2001. Determination of brominated flame retardants in sewage sludges and sediments in South-West Germany. *In*: Poster presentation at the 11<sup>th</sup> Annual Meeting of SETAC Europe, Madrid, Spain, 6-10 May 2001.
- KUEHL, D.W. & HAEBLER, R. 1995. Organochlorine, organobromine, metal, and selenium residues in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) collected during an unusual mortality event in the Gulf of Mexico, 1990. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **28**, 494-499.
- KUEHL, D.W. , HAEBLER, R. & POTTER, C. 1991. Chemical residues in dolphins from the US Atlantic coast including Atlantic bottlenose obtained the 1987/88 mass mortality. *Chemosphere*. **22**, 1071-1084
- KUIPERS, B., CULLEN, W.R. & MOHN, W.W. 1999. Reductive dechlorination of nonachlorobiphenyls and selected octachlorobiphenyls by microbial enrichment cultures. *Environmental Science and Technology*. **33**, 3579-3585.

## L

- LARNO, V., LAROCHE, J., LAUNEY, S., FLAMMARION, P. & DEVAUX, A. 2001. Responses of chub (*Leuciscus cephalus*) populations to chemical stress, assessed by genetic markers, DNA damage and cytochrome P450 1 A induction. *Ecotoxicology*. **10**, 145-158.
- LAROCHE, J., QUINIOU, L., JUHEL, G., AUFFRET, M. & MORAGA, D. 2002. Genetic and physiological responses of flounder (*Platichthys flesus*) populations to chemical contamination in estuaries. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **21** (3), 2705-2712.
- LAW, R.J., ALLCHIN, C.R., BENNETT, M.E., MORRIS, S. & ROGAN, E. 2002. Polybrominated diphenyl ethers in two species of marine top predator from England and Wales. *Chemosphere*. **46** (5), 673-681.
- LAW, R.J., ALAEE, M., ALLCHIN, C.R., BOON, J.P., LEBEUF, M., LEPOM, P., STERN, G.A. 2003. Levels and trends of polybrominated diphenylethers and other brominated flame retardants in wildlife. *Environment International*. **29**, 757-770.

- LAW, R.J., ALLCHIN, C.R., DE BOER, J., COVACI, A., HERZKE, D., LEPOM, P., MORRIS, S. & DE WIT, C. 2004. Levels and Trends of Brominated Flame Retardants in the European Environment. The Third International Workshop on Brominated Flame Retardants BFR 2004, Toronto, Ontario, Canada. 6-9 juin 2004.  
Disponible sur :  
<http://www.bfr2004.com/Individual%20Papers/BFR2004%20Abstract%20019%20Law.pdf>
- LEATHERLAND, J.F., CHO, C.Y. & SLINGER, S.J. 1977. Effects of diet, ambient temperature and holding conditions on plasma thyroxine levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Journal of Fisheries Research Board Canadian*. **34**, 677-682.
- LEBLANC, G.A. 1995. Are environmental sentinels signalling? *Environmental Health Perspectives*. **103**, 888-890.
- LE DREAN-QUENEC'H DU, S., LERAY, G. & MAHEO, R. 1995. Etude ornithologique de la zone Donges-Est. *Etude d'impact du projet d'aménagement de la zone industrialo-portuaire de Donges-Est*. SCE, Nantes. 105 p.
- LE GALL, A.C., LOIZEAU, V., ABARNOU, A., VAN HATTUM, B. & ROMAÑA, L.A. 2003. The food web model. Rapport Final du projet GEMCO Generic Estuary Modelling system to evaluate transport, fate and impact of Contaminants. Rapport IFREMER DEL/EC/03.01. 159 p.
- LEJEUNE, J. 2004. La Baie d'Authie, site naturel de la côte picarde. Disponible sur :  
<http://perso.wanadoo.fr/jose.lejeune/siteinternetbaie/index.html>
- LEONARD, R.A. 1990. Movement of pesticides into surface waters. *In Pesticides in the soil environment*, 303-349, Soil Science Society of America Book Series, n°2, Madison, WI, USA.
- LEPOM, P., KARASYOVA, T. & SAWAL, G. 2002. Occurrence of Polybrominated Diphenylethers in Freshwater fish from Germany. *Organohalogen Compounds*. **58**, 209-212.
- LEPPÄNEN, M. & KUKKONEN, V.K. 2003. Toxicokinetics of sediment-associated polybrominated diphenylethers (flame retardants) in benthic invertebrates (*Lumbriculus variegatus*, *Oligochaeta*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. **23** (1), 166-172.
- LIND, Y., ATUMA, S., AUNE, M., BJERSELIUS, R., DARNERUD, P.O., CNATTINGIUS, S. & GLYNN, A. 2001. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from Uppsala women – extension and up-dating of data. The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants, Stockholm, Sweden.
- LIND, Y., AUNE, M., ATUMA, S., BECKER, W., BJERSELIUS, R., GLYNN, A. & DARNERUD, P.O. 2002. Food intake of the brominated flame retardants PBDEs and HCB in Sweden. *Organohalogen Compounds*. **58**, 181-184.
- LINDBERG, P., SELLSTRÖM, U., HÄGGBERG, L. & DE WIT, C. 2004. Higher Brominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane Found in Eggs of Peregrine Falcons

- (*Falco peregrinus*) Breeding in Sweden. *Environmental Science and Technology*. **38** (1), 93–96.
- LINDSTRÖM, G., VAN BAVEL, B., HARDELL, L. & LILJEGREN, G. 1997. Identification of the flame retardants polybrominated diphenyl ethers in adipose tissue from patients with non-Hodgkin's lymphoma in Sweden. *Oncology reports*. **4**, 999-1000.
  - LINDSTRÖM, G., WINGFORS, H., SUNDELIN, E., LILJEGREN, G. & LINDHOM, P. 1998. Current level of 2,2',4,4'-tetrabrominated diphenyl ether in human adipose tissue in Sweden – a risk factor for non-Hodgkin's lymphoma? *Organohalogen Compounds*. **35**, 431-434.
  - LINDSTRÖM, G., WINGFORS, H., DAM, M. & VAN BAVEL, B. 1999. Identification of 19 polybrominated diphenyl ethers, PBDEs, in long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) from the Atlantic. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. **36**(3), 355-363.
  - LOGANATHAN, B.G., KANNAN, K., WATANABE, I., KAWANO, M., IRVINE, K., KUMAR, S. & SIKKA, H.C. 1995. Isomer-specific determination and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls, polychlorinated/brominated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans, polybrominated biphenyl ethers, and extractable organic halogen in carp from Buffalo River, New York. *Environmental Science and Technology*. **29**, 1832-1838.
  - LOIZEAU, V. & MÉNESGUEN, A. 1993. A steady-state model of PCB accumulation in dab food web. *Oceanologica Acta*. **16**, 633-639.
  - LOIZEAU, V., ABARNOU, A., CUGIER, P., JAOUEN-MADOULET, A., LE GUELLEC, A.M. & MENESGUEN, A. 2001a. A model of PCB bioaccumulation in the sea bass food chain from the Seine estuary (Eastern English Channel). *Marine Pollution Bulletin*. **43**, 242-255.
  - LOIZEAU, V., ABARNOU, A. & MENESGUEN, A. 2001b. A steady state model of PCB bioaccumulation in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) food web from the Seine estuary (France). *Estuaries*. **24** (6B), 1074-1087.
  - LUCKY, F., FOWLER, B. & LITTEN, S. 2001. Establishing baseline levels of Polybrominated Diphenyl Ethers in Lake Ontario surface waters. The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants. 337-340.
  - LUKE, M.A., MASUMOTO, M.T., CAIRNS, T. & HUNDLEY, H.K. 1988. Levels and incidences of pesticide residues in various foods and animal feeds analyzed by the Luke multiresidue methodology for fiscal years 1982-1986. *Journal-Association of Official Analytical Chemists International*. **71**, 415-433.
  - LUROSS, J.M., ALAEE, M., SERGEANT, D.B., WHITTLE, D.M. & SOLOMON, K.R. 2000. Spatial and temporal distribution of polybrominated diphenyl ethers in lake trout from the Great Lakes. *Organohalogen Compounds*. **47**, 73-76.

M

- MACHEREY-NAGEL. Note d'application SPE-142 (301420) : PCB and pesticides from adipose tissues. LC Department. Disponible sur : www.mn-net.com.
- MAHUZIER, C. & HAMON, M. 1997. Chimie analytique. Tome 2. Méthodes de séparation. *Abrégés de Pharmacie*. 2<sup>ème</sup> édition révisée et augmentée. Masson (ed.), Paris, 262 p.
- MANCHESTER-NEESVIG, J.B., VALTERS, K. & SONZOGNI, W.C. 2001. Comparison of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Lake Michigan Salmonids. *Environmental Science and Technology*. **35** (6), 1072-1077.
- MARCHAND, J., DENAYER, J.C. & MONTFORT, D. 1977. Etude écologique de la Basse-Loire de Nantes à Saint-Nazaire (invertébrés – vertébrés). Université de Nantes, Laboratoire de Biologie Marine, Contrat OREAM n° 959-76-002-04. 130 p.
- MARCHAND, J., TANGUY, A., LAROCHE, J., QUINIOU, L. & MORAGA, D. 2003. Responses of European flounder *Platichthys flesus* populations to contamination in different estuaries along the Atlantic coast of France. *Marine Ecology Progress Series*. **260**, 273-284.
- MARCHAND, J., QUINIOU, L., RISO, R., THEBAUT, M.T. & LAROCHE, J. 2004. Physiological cost of tolerance to toxicants in the European flounder *Platichthys flesus*, along the French Atlantic Coast. *Aquatic Toxicology*. **70** (4), 327-343.
- MARION, L. 1997. La description des zones d'intérêt biologique des estuaires. *Dans : Les estuaires français – Evolution naturelle et artificielle*. AUGER, C. & VERREL, J-L, IFREMER. 29-44.
- MARIUSSEN, E., FJELD, E., STRAND-ANDERSEN, M., HJERPSET, M. & SCHLABACH, M. 2003. Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers in fish from the Norwegian lake Mjøsa. *Organohalogen Compounds*. **61**, 247-250.
- MARIUSSEN, E., KÅLÅS, J.A., BORGES, A., NYGAARD, T. & SCHLABACH, M. 2004. Analysis of brominated flame retardants in liver samples of lynx from the Norwegian biota. 14<sup>th</sup> SETAC Europe Annual Meeting. 18-22 Avril 2004. Prague, République Tchèque.
- MARTIN, A.J.P. & SYNGE, R.L.M. 1941. A new form of chromatogram employing two liquid phases. 1. A theory of chromatography. 2. Application of the microdetermination of the higher monoaminoacids in proteins. *Biochemistry Journal*. **35**, 1358-1368.
- MCKIM, J.M., SCHMIER, P. & VEITH, G. 1985. Absorption dynamics of organic chemical transport across trout gills as related to octanol-water partition coefficient. *Toxicology Applied to Pharmacology*. **77**, 1-10.
- MC LUSKY, D.S. 1989. The Estuarine Ecosystem. Blackie, Glasgow-London. 215 p.
- MEERTS, I. A. T. M., VAN ZANDEN, J.J., LUIJKS, E.A.C., VAN LEEUWEN-BOL, I., MARSH, G., JAKOBSSON, E., BERGMAN, Å & BROUWER, A. 2000. Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin *in vitro*. *Toxicological Sciences*. **56**, 95-104.

- MEES, J., ABDULKERIM, Z. & HAMERLINCK, O. 1994. Life history, growth and production of *Neomysis integer* in the Western Scheldt estuary (SW Netherland). *Marine Ecology Progress Series*. **109**, 43-57.
- MEIRONYTÉ, D., BERGMAN, Å. & NORÉN, K. 1998. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in human milk. *Organohalogen Compounds*. **35**, 387-390.
- MEIRONYTÉ, D., NORÉN, K. & BERGMAN, Å. 1999. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. **58**, 329-341.
- MEIRONYTÉ GUVENIUS, D. & NORÉN, K. 1999. Polybrominated diphenyl ethers in human liver and adipose tissues. A pilot study. *Organohalogen Compounds*. **40**, 379-382.
- MEIRONYTÉ GUVENIUS, D. & NORÉN, K. 2000. Multicomponent analysis of organochlorine and organobromine contaminants in human milk, blood, plasma, liver and adipose tissues. *Organohalogen Compounds*. **45**, 45-48.
- MEIRONYTÉ GUVENIUS, D. & NORÉN, K. 2001. Polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. The follow-up study. The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants, Stockholm, Sweden.
- MENESES, M., WINGFORS, H., SCHUHMACHER, M., DOMINGO, J.L., LINDSTRÖM, G. & VAN BAVEL, B. 1999. Polybrominated diphenyl ethers detected in human adipose tissue from Spain. *Chemosphere*. **39**, 2271-2278.
- MICHIGAN DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL QUALITY. 2004. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) : Background Paper. Final Draft 1/7/04. *Toxics Steering Group (TSG) PBDE Subcommittee*. 42 p.  
Disponible sur : [http://www.michigan.gov/documents/PBDE\\_-\\_Final1-7\\_102294\\_7.doc](http://www.michigan.gov/documents/PBDE_-_Final1-7_102294_7.doc)
- MIGNIOT, C. 1997. Bilan de l'hydrologie et de l'hydrosédimentaire de l'estuaire de la Loire au cours des deux dernières décennies. In : Hydrosédimentaire. Estuaire de la Loire. Rapports de synthèse de l'Apeel 1984-1994, MIGNIOT C., LE HIR P. (eds). **1**, 1-62.
- MILLER, J.L., WOLUM, A.G. & WEBER, J.B. 1997. Degradation of carbon-14-atrazine and carbon-14-metolachlor in soil from four depths. *Journal of Environmental Quality*. **26**, 633-638.
- MILLS, M.S. & THURMAN, E.M. 1994. Preferential dealkylation reactions of s-triazine herbicides in the unsaturated zone. *Environmental Science and Technology*. **28**, 600-605.
- Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales. 2004. Ressources Pêche – Aquaculture : La pêche en France.  
Disponible sur : [www.agriculture.gouv.fr/spip/ressources.themes.pecheaquaculture.pechemaritime\\_r60.html](http://www.agriculture.gouv.fr/spip/ressources.themes.pecheaquaculture.pechemaritime_r60.html)

- MOMMA, J. 1986. Studies on the carcinogenicity and chronic toxicity of nonabromobiphenyl (NBB) in mice in comparison of those of polychlorinated biphenyl (PCB). *Japanese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. **14**, 11-33.
- MONOD, G. 1998. Dangers des pesticides pour les organismes aquatiques. Actes du colloque régional de Quévren : *L'eau, les pesticides et la santé*. Disponible sur : <http://perso.wanadoo.fr/erb/colqP8.htm>.
- MONTIEL, A., WELTE, B., FRANCHET, C. & LEGRAND, S. 1989. Elimination de l'atrazine : traitements physico-chimiques et ou traitements biologiques. *Water Supply*. **7** (4), 213-223.
- MÖRCK, A. & KLASSON-WEHLER, E. 2001. Metabolism of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in the rat. *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*. Stockolm, Sweden.
- MORGAN, S.L. 2000. Chemistry 723 Separation Methods in Analytical Chemistry – Gas Chromatography/Mass Spectrometry Analysis of Complex Mixtures by Solid Phase Microextraction. Disponible sur : [www.chem.sc.edu/analytical/chem723/gcmslab.html](http://www.chem.sc.edu/analytical/chem723/gcmslab.html)
- MULVEY, M., NEWMAN, M.C., CHAZAL, A., KEKLAK, M.M., HEAGLER, M.G. & HALES, L.S. 1995. Genetic and demographic responses of mosquitofish (*Gambusia holbrooki* Girard 1859) populations stressed by mercury. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **14**, 1411-1418.
- MUNSCHY, C., MOISAN, K. & TRONCZYNSKI, J. 1996. Inventaire et comportement géochimique de contaminants organiques majeurs dans l'estuaire de la Seine. *Rapport d'activité du Programme Scientifique Seine-Aval*. Rep. No. 1995/Fin-3, 2-37.
- MUÑOZ, I. & ROSÉS, N. 2000. Comparison of extraction methods for the determination of atrazine accumulation in freshwater molluscs (*Physa acuta* Drap. and *Ancylus fluviatilis* Müll, Gastropoda). *Water Research*. **34** (10), 2846-2848.

## N

- NAERT, C. & VAN PETEGHEM, C. 2004. Development of a method based on gas chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of polybrominated diphenyl ethers in human and animal adipose tissue. Poster disponible sur le site : [www.ugent.be/fw/foodanal/en/fw/img/broma/pdf/posterLabo](http://www.ugent.be/fw/foodanal/en/fw/img/broma/pdf/posterLabo)
- NICHOLS, F.H. 1975. Dynamics and energetics of three deposit-feeding benthic invertebrate populations in Puget sound. Washington. *Ecological monographs*. 57-82.
- NICHOLS, F.H. 1978. Dynamics and production of *Pectinaria Koreni* (Mulgren) in Kiel Bay, Weet Germany. Biology of benthic organisms. KEEGAN, B.F., CEIDIGH, P.C., BOADEN, P.S. (eds) Pergamon Press. 453-463.

- NORÉN, K. & MEIRONYTÉ, D. 1998. Contaminants in Swedish human milk. Decreasing levels of organochlorine and increasing levels of organobromine compounds. *Organohalogen Compounds*. **38**, 1-4.
  - NORÉN, K. & MEIRONYTÉ, D. 2000. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years. *Chemosphere*. **40**, 1111-1123.
  - Norme XP X 33-012. 2000. Caractérisation des boues – Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des polychlorobiphényles (PCB). Normalisation Française AFNOR. 28 p.
  - NORRIS, J.M., EHRMANTRAUT, J.W., GIBBONS, C.L., KOCIBA, R.J., SCHWETS, B.A., ROSE, J.Q., HUMISTON, C.G., JEWETT, G.L., CRUMMETT, W.B., GEHRING, P.J., TIRSELL, J.B. & BROSIER, J.S. 1973. Toxicological and environmental factors involved in the selection of decabromodiphenyl oxide as a fire retardant chemical. *Applied Polymer Symposia*. **22**, 195-219.
  - NORRIS, J.M., EHRMANTRAUT, J.W., KOCIBA, R.J., SCHWETS, B.A., ROSE, J.Q., HUMISTON, C.G., JEWETT, G.L., CRUMMETT, W.B., GEHRING, P.J., TIRSELL, J.B. & BROSIER, J.S. 1975a. Evaluation of decabromodiphenyloxide as a flame-retardant chemical. *Chemicals and Human Health Environment*. **1**, 100-116.
  - NORRIS, J.M., KOCIBA, R.J., SCHWETS, B.A., ROSE, J.Q., HUMISTON, C.G., JEWETT, G.L., GEHRING, P.J. & MAILHES, J.B. 1975b. Toxicology of octabromobiphenyl and decabromodiphenyl oxide. *Environmental Health Perspectives*. **11**, 153-161.
  - NORSTROM, R.J. & LETCHER, R.J. 1996. Role of biotransformation in bioconcentration and bioaccumulation. Annex I. *In* : Biotransformation in environmental risk assessment; a SETAC Workshop Noordwijkerhout, the Netherlands. Sijm, De Bruijn, De Voogt & De Wolf (eds). 28 April-1 May 1996.
  - NORVEGIAN POLLUTION CONTROL AUTHORITY. 2001. Harmonised Quantification and Reporting Procedures (HARP-HAZ Prototype) 1789-2001. *Fifth International Conference on the Protection of the North Sea*. BJOTVEIT, I.: project responsible. 140p.
  - NV. 1988. Sweden's marine environment: ecosystems under pressure. Organochlorine compounds. Monitor 1988, Swedish Environmental Protection Agency, Stockholm, Sweden. 172-196.
  - NYLUND, K., ASPLUND, L., JANSSON, B., JONSSON, P., LITZEN, K. & SELLSTRÖM, U. 1992. Analysis of some polyhalogenated organic pollutants in sediment and sewage sludge. *Chemosphere*. **24**(12), 1721-1730.
- 
- ÖBERG, K., WARMAN, K. & ÖBERG, T. 2002. Distribution and levels of brominated flame retardants in sewage sludge. *Chemosphere*. **48**, 805-809.

- ÖBERG, T. & BERGSTRÖM, J. 1990. Bromine and waste incineration – an environmental risk? *Organohalogen Compounds*. **40**, 363-366.
- OFIMER. 2001. Le marché de la crevette. 8p.  
Disponible sur : [www.ofimer.fr/PDF/obseco/11\\_notesthem/crevette.pdf](http://www.ofimer.fr/PDF/obseco/11_notesthem/crevette.pdf)
- OFIMER, 2002. Le marché français des produits de la pêche et de l'aquaculture. 18 p.  
Disponible sur : [www.ofimer.fr/PDF/RA/RA\\_02\\_eoe.pdf](http://www.ofimer.fr/PDF/RA/RA_02_eoe.pdf)
- OHTA, S., ISHIZUKA, D., NISHIMURA, H., NAKAO, T., AOZASA, O., SHIMIDZU, Y., OCHIAI, F., KIDA, T. & MIYATA, H. 2000. Real situation of contamination by polybrominated diphenyl ethers as flame retardant in market fish and mother milk of Japan. *Organohalogen Compounds*. **47**, 218-221.
- OHTA, S., ISHIZUKA, D., NISHIMURA, H., NAKAO, T., AOZASA, O., SHIMIDZU, Y., OCHIAI, F., KIDA, T., NISHI, M. & MIYATA, H. 2002. Comparison of polybrominated diphenyl ethers in fish, vegetables, and meats and levels in human milk of nursing women in Japan. *Chemosphere*. **46** (5), 689-696.
- OLSSON, A., VITINSH, M., PLIKSHS, M. & BERGMAN, Å. 1999. Halogenated environmental contaminants in perch (*Perca fluviatilis*) from Latvian coastal areas. *The Science of the Total Environment*. **239**, 19-30.
- ORTIZ-GOMEZ, M.T., PEREZ-ARRIBAS, L.V., LEON-GONZALEZ, M.E. & POLO-DIEZ, L.M. 1995. Liquid Chromatography Determination of Simazine and Antimycin A in Must. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **43** (11), 2883-2886.
- OSPAR, 2001. Certain Brominated Flame Retardants – Polybrominated Diphenylethers, Polybrominated Biphenyls, Hexabrom Cyclododecane. OSPAR Priority Substances Series, OSPAR Commission. 24 p.

## P

- PALM, A., COUSINS, I.T., MACKAY, D., TYSKLIND, M., METCALFE, C. & ALAEE, M. 2002. Assessing the environmental fate of chemicals of emerging concern: a case study of the polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Pollution*. **117**, 195-213.
- PANDIAN, J. 1970. Intake and conversion of food in the fish *Limanda limanda* exposed to different temperatures. *Marine Biology*. **5**, 1-17.
- PARDUE, J.R. 1995. Multiresidue method for the chromatographic determination of triazine herbicides and their metabolites in raw agricultural products *Journal-Association of Official Analytical Chemists International*. **78** (3), 856-862.
- PAUL, A.J., PAUL, J.M. & SMITH, R.L. 1990. Rates of oxygen consumption of yellowfin sole (*Limanda limanda*) (Pallas) relative to body size, food intake and temperature. *Journal du CIEM*. **47**, 205-270.

- PEREZ-RUZAFÁ, A., NAVARRO, S., BARBA, A., MARCOS, C., CAMARA, M.A., SALAS, F. & GUTIERREZ, J.M. 2000. Presence of Pesticides throughout Trophic Compartments of the Food Web in the Mar Menor Lagoon (SE Spain). *Marine Pollution Bulletin*. **40** (2), 140-151.
- PETERS, A.J., COLEMAN, P. & JONES, K.C. 1999a. Organochlorine pesticides in UK air. *Organohalogen Compounds*. **41**, 447-450.
- PETERS, A.J., TOMY, G.T., STERN, G.A., ASPLUND, L., KIEKERGAARD, A., COLEMAN, P. AND JONES, K.C. 1999b. Persistent organic pollutants in the atmosphere of the United Kingdom. Poster DIOXIN'99 : 19<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. Venice, Italie, 12-17 septembre.
- PETTERSSON, A. & KARLSSON, M. 2001. Analysis and toxicology of brominated flame retardants with emphasis on PBDEs (polybrominated diphenylethers). *MTM 01-8-PP*. Ma-Technology-Environment Research Centre, Department of Natural Sciences, Örebro University. 64p.
- PIJNENBURG, A.M.C.M., EVERTS, J.W., De BOER, J. & BOON, J.P. 1995. Polybrominated Biphenyl and Diphenylether Flame Retardants: Analysis, Toxicity, and Environmental Occurrence. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. **141**, 1-26.
- PILLAI, P., WEETE, J.D., DINER, A.M. & DAVIS, D.E. 1979. Atrazine metabolism in box crabs. *Journal of Environmental Quality*. **8**, 277-280.
- PIMENTEL, D. 1995. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*. **8**, 17-29.
- PIMENTEL, D. & LEVITAN, L. 1986. Pesticides: amounts applied and amounts reaching pests. *Bioscience*. **36**, 86-91.
- PIMENTEL, D., ACQUAY, H., BILTONEN, M., RICE, P., SILVA, M., NELSON, J., LIPNER, S., GIORDAN, S., HOROWITZ, A. & D'AMORE, M. 1993. Assessment of environmental and economic impacts of pesticide use. In *The pesticide question: environment, economics and ethics*, PIMENTEL & LEHMAN (eds), 47-84. Routledge, Chapman and Hall, New York.
- PRONIEWSKI, F. 1985. Influence sur les peuplements estuariens des rejets industriels et des aménagements portuaires. Actes du colloque national CNRS 24-26 avril 1985 : La baie de Seine, fonctionnement, conséquences en matière d'environnement et d'utilisation de la mer. Greco Manche, Université de Caen. **2**, 281-286.
- PROSEN, H., ZUPANČIČ-KRALJ, L. & MARSEL, J. 1995. Optimization of an analytical procedure for the determination of triazine herbicides in environmental samples. *Journal of Chromatography A*. **704**, 121-130.
- PUSSEMIER, L., GOUX, S., VANDERHEYDEN, V., DEBONGNIE, P., TRESINIE, I. & FOUCART, G. 1997. Rapid dissipation of atrazine in soils taken from various maize fields. *Weed Research*. **37**, 171-179.

R

- RAMSTEINER, K., HORMANN, W.D. & EBERLE, D.O. 1974. Multiresidue method for the determination of triazine herbicides in field-grown agricultural crops, water and soils. *Journal-Association of Official Analytical Chemists International*. **57** (1), 192-201.
- READMAN, J.W., ALBANIS, T.A., BARCELO, D., GALASSI, S., TRONCZYNSKI, J. & GABRIELIDES, G.P. 1993. Herbicide contamination of Mediterranean estuarine waters : results from a MED POL pilot survey. *Marine Pollution Bulletin*. **26**, 11, 613-619.
- RESTEK ENVIRONMENTAL. Applications note n° 59389B : Optimized Analysis of Brominated Flame Retardants, Using an Rtx®-500 GC Capillary Column. Disponible sur : [www.restekcorp.com](http://www.restekcorp.com).
- RIESS, M., ERNST, T., POPP, R., MÜLLER, B., THOMA, H., VIERLE, O., WOLF, M. & VAN ELDIK, R. 2000. Analysis of flame retarded polymers and recycling materials. *Chemosphere*. **40**, 937-941.
- RNO, 1995. Surveillance du milieu marin. Travaux du RNO, IFREMER. 32 pp.
- RNO, 2000. Tendances temporelles des teneurs en contaminants dans les mollusques du littoral français. Le RNO : programmes actuels. Travaux du RNO, IFREMER, 36 pp.
- ROBINET, T. & FEUNTEUN, E. 2002. Sublethal effects of exposure to chemical compounds : a cause for the decline of Atlantic eels ? *Ecotoxicology*. **11**, 265-277.
- ROCHA, F. & WALKER, A. 1995. Simulation of the persistence of atrazine in soil at different sites in Portugal. *Weed Research*. **35**, 179-186.
- ROMAÑA, L.A. 1994. Les grands estuaires français. *Equinoxe spécial Environnement Littoral*. **47-48**. 7 p.  
Disponible sur : [www.ifremer.fr/envlit/pdf/documentspdf/Estuaires\\_equinoxe1.pdf](http://www.ifremer.fr/envlit/pdf/documentspdf/Estuaires_equinoxe1.pdf).
- ROSEBOOM, H. & HERBOLD, H.A. 1980. Determination of triazine herbicides in various crops by capillary gas chromatography with thermoionic detection. *Journal of Chromatography A*. **202** (3), 431-438.
- ROUESSAC, F. ET ROUESSAC, A. 2000. Analyse chimique – Méthodes et techniques instrumentales modernes. 5<sup>ème</sup> édition. Dunod (ed.), Paris. 430 p.
- RUNGIS INTERNATIONAL. 2004. Les produits du mois – la moule de bouchot. Disponible sur : [www.rungisinternational.com/pages/fr/dossiers/pm5.asp](http://www.rungisinternational.com/pages/fr/dossiers/pm5.asp)
- RYAN, J.K. & PATRY, B. 2000. Determination of brominated diphenyl ethers (BDEs) and levels in Canadian human milks. *Organohalogen Compounds*. **47**, 57-60.
- RYAN, J.K. & PATRY, B. 2001. Body burdens and food exposure in Canada for polybrominated diphenyl ethers (BDEs). *Organohalogen Compounds*. **51**, 226-229.

S

- SAFE, S. 1984. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): Biochemistry, toxicology and mechanism of action. *CRC Critical Reviews in Toxicology*. **13**, 319-395.
- SAITO, K., SJÖDIN, A., SANDAU, C.D., DAVIS, M.D., NAKAZAWA, H., MATSUKI, Y. & PATTERSON, D.G. 2004. Development of an accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography analytical method for measuring persistent organohalogen compounds in adipose and organ tissue analysis. *Chemosphere*. **57** (5), 373-381.
- SAKAI, S., WATANABE, J., HONDA, Y., TAKATSUKI, H., AOKI, I., FUTAMATSU, M. & SHIOZAKI, K. 2001. Combustion of brominated flame retardants and behavior of its byproducts. *Chemosphere*. **42**, 519-531.
- SALZWEDEL, H. 1980. Energy budgets for two populations of the bivalve *Tellina fabula* in the German Bight. Veröff. Inst. Meersforsch. *Bremerh.* **18**, 157-287.
- SCHIAVON, M., PERRIN-GANIER, C. & PORTAL, J.M. 1995. La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires: état et origine. *Agronomie*. **15**, 157-170.
- SCHLABACH, M., FJELD, E. & BORGES, A.R. 2004. Brominated Flame Retardants in Drammens River and the Drammensfjord, Norway. The Third International Workshop on Brominated Flame Retardants BFR 2004, Toronto, Ontario, Canada. 6-9 June 2004. Disponible sur : [www.bfr2004.com/Individual%20Papers/BFR2004%20Abstract%20031%20Schlabach.pdf](http://www.bfr2004.com/Individual%20Papers/BFR2004%20Abstract%20031%20Schlabach.pdf)
- SCHLUETER, M.A., GUTTMAN, S.I., ORIS, J.T. & BAILER, A.J. 1997. Differential survival of fathead minnows, *Pimephales promelas*, as affected by copper exposure, prior population stress, and allozyme genotypes. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **16**, 939-947.
- SCHMIDT, S., FORTNAGEL, P. & WITTICH, R.F. 1993. Biodegradation and transformation of 4,4'- and 2,4-dihalodiphenyl ethers by *Sphingomonas sp.* strain SS33. *Applied and Environmental Microbiology*. **59** (11), 3931-3933.
- SCHRÖTER-KERMANI, C., HELM, D., HERMANN, T. & PÄPKE, O. 2000. The German environmental specimen bank – application in trend monitoring of polybrominated diphenyl ethers in human blood. *Organohalogen Compounds*. **47**, 49-52.
- SELLSTRÖM, U. 1996. Polybrominated diphenyl ethers in the Swedish environment. *Licenciate thesis, ITM-Rapport 1996*, 45. Stockholm University, Stockholm, Sweden.
- SELLSTRÖM, U. 1999. Determination of some polybrominated flame retardants in biota, sediment and sewage sludge. Ph. D. dissertation, Department of Environmental Chemistry, Stockholm University.
- SELLSTRÖM, U., JANSSON, B., JONSSON, P., NYLUND, K., ODSJÖ, T. & OLSSON, M. 1990. Anthropogenic brominated aromatics in the Swedish environment. *Organohalogen Compounds*. **2**, 357-360.

- SELLSTRÖM, U., JANSSON, B., KIERKEGAARD, A., DE WIT, C., ODSJÖ, T. & OLSSON, M. 1993. Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in biological samples from the Swedish environment. *Chemosphere*. **26**, 1703-1718.
- SELLSTRÖM, U., KIERKEGAARD, A., DE WIT, C. & JANSSON, B. 1998a. Polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in sediment and fish from a Swedish river. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **17**, 1065-1072.
- SELLSTRÖM, U., SÖDERSTRÖM, G., DE WIT, C. & TYSKLIND, M. 1998b. Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (DeBDE). *Organohalogen Compounds*. **35**, 447-450.
- SELLSTRÖM, U., KIERKEGAARD, A., ALSBERG, T., JONSSON, P., WAHLBERG, C. & DE WIT, C. 1999. Brominated flame retardants in sediments from European estuaries, the Baltic Sea and in sewage sludge. *Organohalogen Compounds*. **40**, 383-386.
- SELLSTRÖM, U., LINDBERG, P., HÄGGLUND, L. & DE WIT, C. 2001. Higher brominated PBDEs found in eggs of Peregrine Falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden. The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants, Stockholm, Sweden.
- SHE, J., PETREAS, M., WINKLER, J., VISITA, P., MCKINNEY, M. & KOPEC, D. 2002. PBDEs in the San Francisco Bay Area : measurements in harbor seal blubber and human breast adipose tissue. *Chemosphere*. **46**, 697-707.
- SINGH, H. 1989. Interaction of xenobiotics with reproductive endocrine functions in a teleost, *Monopterus albus*. *Marine Environmental Research*. **28**, 285-289.
- SJÖDIN, A. 2000. Occupational and Dietary Exposure to Organohalogen Substances with Special Emphasis on Polybrominated Diphenyl Ethers. *PhD Thesis*. Université de Stockholm, Suède.
- SJÖDIN, A., THURESSON, K., HAGMAR, L., KLASSON-WEHLER, E. & BERGMAN, Å. 1999a. Occupational exposure to polybrominated diphenyl ethers at dismantling of electronics – Ambient air and human serum analysis. *Organohalogen Compounds*. **43**, 447-450.
- SJÖDIN, A., HAGMAR, L., KLASSON-WEHLER, E., KRONHOLM-DIAB, K., JAKOBSSON, E. & BERGMAN, Å. 1999b. Flame retardants exposure : polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish workers. *Environmental Health Perspectives*. **107**, 643-648.
- SJÖDIN, A., CARLSSON, H., THURESSON, K., SJÖLIN, S., BERGMAN, Å. & ÔSTMAN, C. 2001. Flame Retardants in Indoor Air at an Electronics Recycling Plant and at Other Work Environments. *Environmental Science and Technology*. **35** (3), 448-454.
- SÖDERSTRÖM, G. & MARKLUND, S. 2000. PXDD and PXDF from combustion of bromoflameretardant containing MSW. *Organohalogen Compounds*. **47**, 225-228.
- SÖDERSTRÖM, G., SELLSTRÖM, U., DE WIT, C.A., TYSKLIND, M., 2004. Photolytic Debromination of Decabromodiphenyl Ether (BDE-209). *Environmental Science and Technology*. **38**, 127-132.

- STAFFORD, C.J. 1983. Halogenated diphenyl ethers identified in avian tissues and eggs by GC/MS. *Chemosphere*. **23**, 1185-1195.
- STANLEY, J.S., CRAMER, P.H., THOMBURG, K.R., REMMERS, J.C., BREEN, J.J. & SCHWEMBERGER, J. 1991. Mass spectral confirmation of chlorinated and brominated diphenyl ethers in human adipose tissues. *Chemosphere*. **23**, 1185-1195.
- STAPLETON, H.M., LETCHER, R.J., BAKER, J.E. 2002. Uptake, metabolism and depuration of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) by the common carp (*Cyprinus carpio*). *Organohalogen Compounds*. **58**, 201-204.
- STAPLETON, H.M., LETCHER, R.J. & BAKER, J.E. 2004a. Debromination of Polybrominated Diphenyl Ether Congeners BDE 99 and BDE 183 in the Intestinal Tract of the Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Science and Technology*. **38**, 1054-1061.
- STAPLETON, H.M., ALAEE, M., LETCHER, R.J., BAKER, J.E. 2004b. Debromination of the flame retardant decabromodiphenyl ether by juvenile carp following dietary exposure. *Environmental Science and Technology*. **38**, 112-119.
- STAPLETON, H.M., LETCHER, R.J., LI, J. & BAKER, J.E. 2004c. Dietary accumulation and metabolism of polybrominated diphenyl ethers by juvenile carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. **23** (8), 1939-1946.
- STERN, G.A. & IKONOMOU, M.G. 2000. Temporal trends of polybrominated diphenyl ethers in SE Baffin Beluga: increasing evidence of long range atmospheric transport. *Organohalogen Compounds*. **47**, 61-64.
- STRANDBERG, B., DODDER, N.G., BASU, I. & HITES, R.A. 2001. Concentrations and spatial variations of polybrominated diphenyl ethers and other organohalogen compounds in Great Lakes air. *Environmental Science and Technology*. **35**, 1078-1083.
- STRANDBERG, M.T. & SCOTT-FORDSMAND, J.J. 2002. Field effects of simazine at lower trophic levels – a review. *The Science of the Total Environment*. **296**, 117-137.
- STRANDMAN, T., KOISTINEN, J., KIVIRANTA, H., VUORINEN, P.J., TUOMISTO, J., TUOMISTO, J. & VARTIAINEN, T. 1999. Levels of some polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish and human adipose tissue in Finland. *Organohalogen Compounds*. **40**, 355-358.
- STRANDMAN, T., KOISTINEN, J. & VARTIAINEN, T. 2000. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in placenta and human milk. *Organohalogen Compounds*. **47**, 61-64.
- STRATTON, C.L. & WHITLOCK, S.A. 1979. A survey of polybrominated biphenyls (PBBs) near sites of manufacture and use in northwestern New Jersey. EPA 560/13-79-002, US Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- SWEDISH ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1998. *Persistent Organic Pollutants – A Swedish View of an International Problem*. Monitor 16, 152 p.

T

- TAKASE, I., OMORI, T. & MINODA, Y. 1986. Microbial degradation products from biphenyl related compounds. *Agricultural and Biological Chemistry*. **50** (3), 681-686.
- TAKASUGA, T., INOUE, T., OHI, E. & UMETSU, N. 1995. Identification of polybrominated diphenylethers as possible interferences in dioxin analysis by HRGC-HRMS. *Organohalogen Compounds*. **23**, 81-84.
- TANGE, L., VEHLow, J. & DROHMANN, D. 2001. Bromine recovery in incinerators and alternative thermal processes from plastics of E&E equipment containing brominated flame retardants as sustainable solution. *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Stockholm, Sweden.
- TATARA, C.P., MULVEY, M. & NEWMAN, M.C. 1999. Genetic and demographic responses of mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) populations exposed to mercury for multiple generations. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **18**, 2840-2845.
- TAYLOR, A.W. & SPENCER, W.F. 1990. Volatilization and vapor transport processes. *In Pesticides in the soil environment*, 213-269, Soil Science Society of America Book Series, n°2, Madison, WI, USA.
- TER SCHURE, A.F.H. & LARSSON, P. 2002. Polybrominated diphenyl ethers in precipitation in Southern Sweden (Skåne, Lund). *Atmospheric Environment*. **36**, 4015-4022.
- TER SCHURE, A.F.H., LARSSON, P., MERILÄ, J. & JÖNSSON, K.I. 2002. Latitudinal Fractionation of Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls in Frogs (*Rana temporaria*). *Environmental Science and Technology*. **36**, 5057-5061.
- THEODORAKIS, C.W., SWARTZ, C.D., ROGERS, W.J., BICKHAM, J.W., DONELLY, K.C. & MARSHALL ADAMS, S. 2000. Relationship between genotoxicity, mutagenicity, and fish community structure in a contaminated stream. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*. **7**, 131-143.
- THOMA, H., HAUSCHULZ, G., KNORR, E. & HUTZINGER, O. 1987. Polybrominated dibenzofurans (PBDFs) and dibenzodioxins (PBDDs) from the pyrolysis of flame retardants neat brominated diphenylethers, biphenyle and plastics mixtures of these compounds. *Chemosphere*. **16**, 277-285.
- THOMANN, R.C. & CONNOLY, J.P. 1984. Model of PCB in the Lake Michigan trout food chain. *Environmental Science and Technology*. **18** (2), 65-71.
- THOMANN, R.C., CONNOLY, J.P. & PARKERTON, T. 1992. An equilibrium model of organic chemical accumulation in aquatic food webs with sediment interaction. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **11**, 615-629.
- TOMY, G.T., PALACE, V.P., HALLDORSON, T., BRAEKEVELT, E., DANELL, R., WAUTIER, K., EVANS, B., BRINKWORTH, L. & FISK, A.T. 2004. Bioaccumulation, Biotransformation, and Biochemical Effects of Brominated Diphenyl Ethers in Juvenile Lake Trout (*Salvelinus namaycush*). *Environmental Science and Technology*. **38**, 1496-1504.

- TOX. 2003. Brominated Flame Retardants in fish from the Skerne-Tees river system. Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment. *TOX/2003/14*, 29p.
- TRONCZYNSKI, J., MUNSCHY, C. & MOISAN, K. 1999. Les contaminants organiques qui laissent des traces. Source, transport et devenir. *Programme scientifique Seine-Aval*. Fascicule **12**.
- TYSKLIND, M., SELLSTRÖM, U., SÖDERSTRÖM, G. & DE WIT, C. 2001. Abiotic transformation of polybrominated diphenylethers (PBDEs) : Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether. *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Stockholm, Sweden.

## U

- US EPA. 1986. Brominated Diphenyl Ethers. Chemical Hazard Information Profile. Washington, DC, US Environmental Protection Agency.

## V

- VAN BAVEL, B., SUNDELIN, E., LILLBÄCK, J., DAM, M. & LINDSTRÖM, G. 1999. Supercritical fluid extraction of polybrominated diphenyl ethers, PBDEs, from long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) from the Atlantic. *Organohalogen Compounds*. **40**, 359-362.
- VAN DER VEER, H.W., KOOIJMAN, S.A.L.M. & VAN DER MEER, J. 2001. Intra- and interspecies comparison of energy flow in North Atlantic flatfish species by means of dynamic energy budgets. *Journal of Sea Research*. **45**, 303-320.
- VAN ZEIJL, H. 1997. Report of the results of the one-off survey DIFFCHEM. *Oslo and Paris Commissions, report SIME 97/6/1-E*.
- VASBLUM, A.G. & ELGERSHUIZEN, H.B. 1997. Survival and oxygen consumption of *Praunus flexuosus* and *Neomysis integer* and embryonic development of the latter species in different temperature and chlorinity combination. *Netherland Journal of Sea Research*. **11**, 305-315.
- VERREAULT, J., GABRIELSEN, G.W., LETCHER, R.J., MUIR, D. & CHU, S. 2004. New and Established Organohalogen Contaminants and Their Metabolites in Plasma and Eggs of Glaucous Gulls From Bear Island. Report 914/2004. The Norwegian Pollution Control Authority (SFT), Norwegian Polar Institute. 26 pp.  
Disponible sur : <http://www.sft.no/publikasjoner/overvaking/2057/ta2057.pdf>
- VIBERG, H., FREDRIKSSON, A., JAKOBSSON, E., ÖRN, U. & ERIKSSON, P. 2001. Neonatal exposure to hexabromodiphenyl ether (PBDE 153) affects behaviour and cholinergic

nicotine receptors in brain of adult mouse. *The Second International Workshop on Brominated Flame Retardants*, Stockholm, Sweden.

- VIDAL, J. 1980. Physioecology of zooplankton.1 Effects of phytoplankton concentration, temperature, and body size on the growth rate of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus sp.* *Marine Biology*. **56**, 111-134.
- VIONOV, V.G., ELKIN, Y.N., KUZNETSOVA, T.A., MALTSEV, I.I., MIKHAILOV, V.V. & SASUNKEVIC, V.A. 1991. Use of mass spectrometry for the detection and identification of bromine-containing diphenyl esters. *Journal of Chromatography*. **586** (2), 360.
- VIVES, I., GRIMALT, J.O., LACORTE, S., GUILLAMON, M. & BARCELO, D. 2004. Polybromodiphenyl Ether Flame Retardants in Fish from Lakes in European High Mountains and Greenland. *Environmental Science and Toxicology*. **38** (8), 2338-2344.
- VOORSPOELS, S., COVACI, A., SCHEPENS, P. 2003. Polybrominated Diphenyl Ethers in Marine Species from the Belgian North Sea and the Western Scheldt Estuary : Levels, Profiles, and Distribution. *Environmental Science and Technology*. **37**, 4348-4357.

## W

- WALKER, A. & ZINDHAL, R.L. 1981. Simulation of persistence of atrazine, linuron and metolachlor in soil at different sites in the USA. *Weed Research*. **21**, 255-265.
- WATANABE, I. & TATSUKAWA, R. 1987. Formation of Brominated Dibenzofurans from the Photolysis of Flame Retardant Decabromobiphenyl Ether in Hexane Solution by UV and Sun Light. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **39**, 953-959.
- WATANABE, I. & TATSUKAWA, R. 1990. Anthropogenic brominated aromatics in the Japanese environment. *In: (KEMI, 1990) Proceedings: Workshop on brominated aromatic flame retardants*. Swedish National Chemicals Inspectorate, Solna.
- WATANABE, I., KASHIMOTO, T. & TATSUKAWA, R. 1986. Confirmation of the presence of flame retardant decabromobiphenyl ether in river sediment from Osaka, Japan. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **36**, 839-842.
- WATANABE, I., KASHIMOTO, T. & TATSUKAWA, R. 1987. Polybrominated biphenylethers in marine fish, shellfish and river and marine sediments in Japan. *Chemosphere*. **16**, 2389-2396.
- WATANABE, I., KAWANO, M., WANG, Y., CHEN, Y. & TATSUKAWA, R. 1992. Polybrominated dibenzo-*p*-dioxins (PBDDS) and dibenzofurans (PBDFS) in atmospheric air in Taiwan and Japan. *Organohalogen Compounds*. **9**, 309-312.
- WATANABE, I., KASHIMOTO, T. & TATSUKAWA, R. 1995. Polybrominated and mixed polybromo/chlorinated dibenzo-*p*-dioxins and -dibenzofurans in the Japanese environment. *Organohalogen Compounds*. **24**, 337-340.
- WEIL, J.H. 2001. Biochimie générale. Dunod (*ed.*), 9<sup>ème</sup> édition. 655p.

- WHO/ICPS. 1994a. Polybrominated biphenyls. Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the international Labour Organisation, and the World Health Organization. *Environmental Health Criteria*. **152**. Geneva, Switzerland.
- WHO/ICPS. 1994b. Polybrominated diphenyl ethers. Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the international Labour Organisation, and the World Health Organization. *Environmental Health Criteria*. **162**. Geneva, Switzerland.
- WHO/ICPS. 1995. Tetrabromobisphenol A and derivatives. *Environmental Health Criteria*. **172**. World Health Organisation, Geneva
- WHO/ICPS. 1997. Flame Retardants – General Introduction. *Environmental Health Criteria*. **192**. World Health Organisation, Geneva.
- WIJESEKERA, R., HALLIWELL, C., HUNTER, S. & HARRAD, S. 2002. A preliminary assessment of UK human exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Organohalogen Compounds*. **55**, 239-242.
- WILKANDER, B. 1980. Biometry and behaviour in *Abra nitida* (Müller) and *A. longicallus* (Scacchi) (Bivalvia, Tellinacea). *Sarsia*. **65**, 255-268.
- WINTER-SORKINA, R., BAKKER, M.I., VAN DONKERSGOED, G. & VAN KLAVEREN, J.D. 2003. Dietary intake of brominated flame retardants by Dutch population. RIVM report 310305001/2003. 25p.
- WITTMANN, C. & HOCK, B. 1993. Analysis of atrazine residues in food by an enzyme immunoassay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **41** (9), 1421-1425.
- WOLKERS, H., VAN BAVEL, B., DEROCHER, A.E., WIIG, O., KOVACS, K.M., LYDERSEN, C. & LINDSTRÖM, G. 2004. Congener-Specific Accumulation and Food Chain Transfer of Polybrominated Diphenyl Ethers in Two Arctic Food Chains. *Environmental Science and Technology*. **38**, 1667-1674.
- WOOD, M., HAROLD, J., JOHNSON, A. & HANCE, R.J. 1991. The potential for atrazine degradation in aquifer sediments. In Pesticides in soils and water: Current perspectives. Walker, BCPC, Farnham & Surrey (eds). *Monograph*, UK. 175-182.

## Y

- YAMAMOTO, H., OKUMURA, T., NISHIKAWA, Y. & KONISHI, H. 1997. Determination of decabromobiphenyl ether in water and sediment samples by gas chromatography with electron capture detection. *Journal of AOAC international*. **80** (1), 102-103.

**Z**

- ZEGERS, B.N., LEWIS, W.E. & BOON, J.P. 2000. Levels of some polybrominated diphenyl ethers (PBDE) flame retardants in dated sediment cores. *Organohalogen Compounds*. **47**, 229-232.
- ZENNEGG, M., KOHLER, M., GERECKE, A.C. & SCHMID, P. 2003. Polybrominated diphenyl ethers in whitefish from Swiss lakes and farmed rainbow trout. *Chemosphere*. **51**, 545-553.
- ZWEIDINGER, R.A., COOPER, S.D., ERICKSON, M.D., MICHAEL, L.C. & PELLIZZARI, E.D. 1979. Sampling and analysis for semivolatile brominated organics in ambient air. *ACS Symposium Series*. **94**, 217-231.

# ANNEXES



## **LISTE DES ANNEXES**

**ANNEXE 1** : Localisation des estuaires de Seine et d'Authie et carte détaillée de l'estuaire de la Seine

**ANNEXE 2** : Division physiques et salines de l'estuaire de la Loire (d'après Marion, 1997).

**ANNEXE 3** : Structure chimique des différents PBDE étudiés.

**ANNEXE 4** : Schéma de fonctionnement du Soxhlet accéléré (Büchi Labortechnik®).

**ANNEXE 5** : L'injecteur split/splitless (CNRS, 2004).

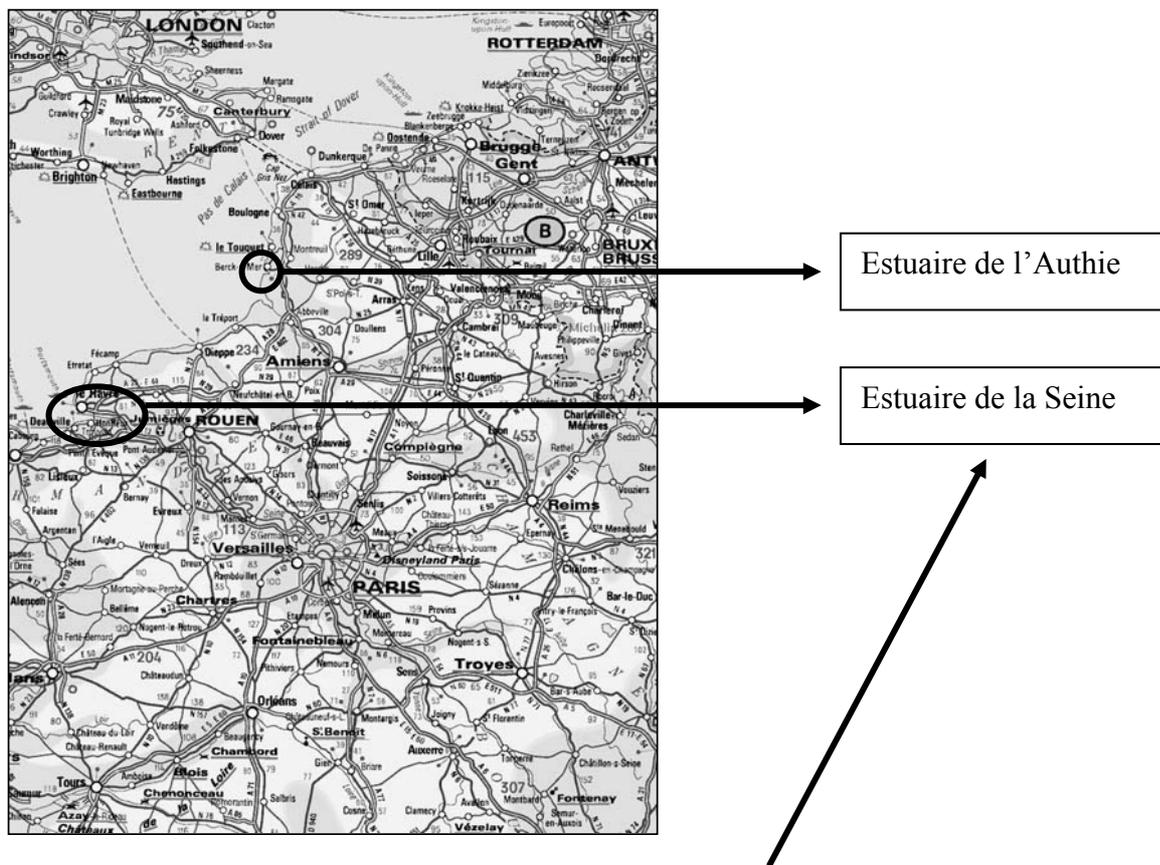
**ANNEXE 6** : Schéma comparatif entre une colonne capillaire et une colonne remplie (CNRS, 2004).

**ANNEXE 7** : Schéma du fonctionnement d'un chromatographe gazeux couplé à un spectromètre de masse (Morgan, 2000).

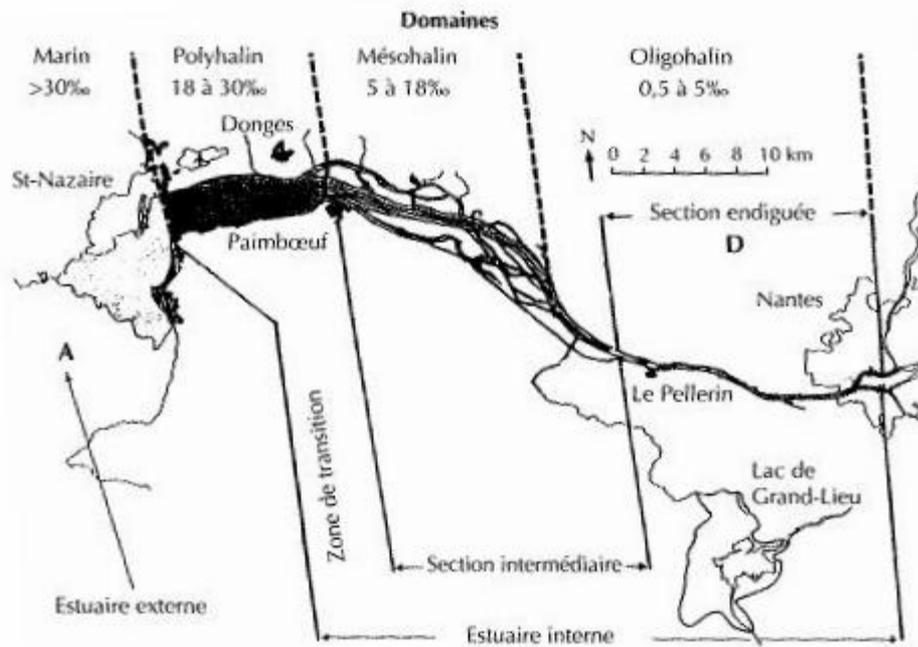
**ANNEXE 8** : Schéma du trajet d'un ion résonnant et d'un ion non-résonnant à l'intérieur du spectromètre de masse quadropôle (Morgan, 2000).

**ANNEXE 9** : Feuilles de calculs types utilisées pour modéliser les concentrations de BDE-47 et BDE-99 dans les organismes. La modélisation du BDE-99 prend en compte le phénomène de biotransformation.

**ANNEXE 1 :** Localisation des estuaires de Seine et d'Authie et carte détaillée de l'estuaire de la Seine

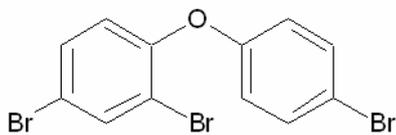


**ANNEXE 2 :** Division physiques et salines de l'estuaire de la Loire (d'après Marion, 1997).

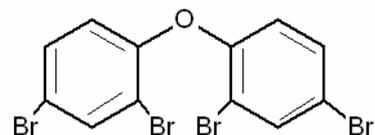


**ANNEXE 3 :** Structure chimique des différents PBDE étudiés.

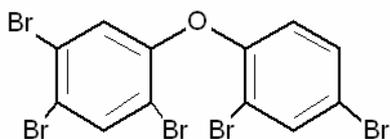
**BDE-28**



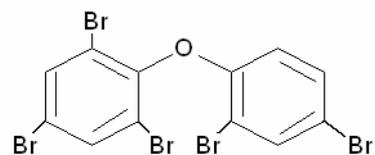
**BDE-47**



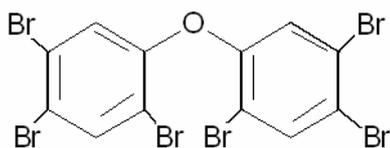
**BDE-99**



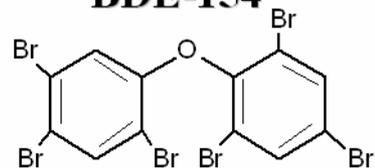
**BDE-100**



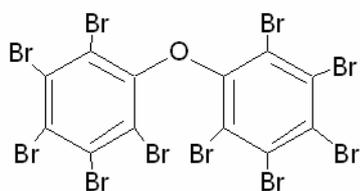
**BDE-153**



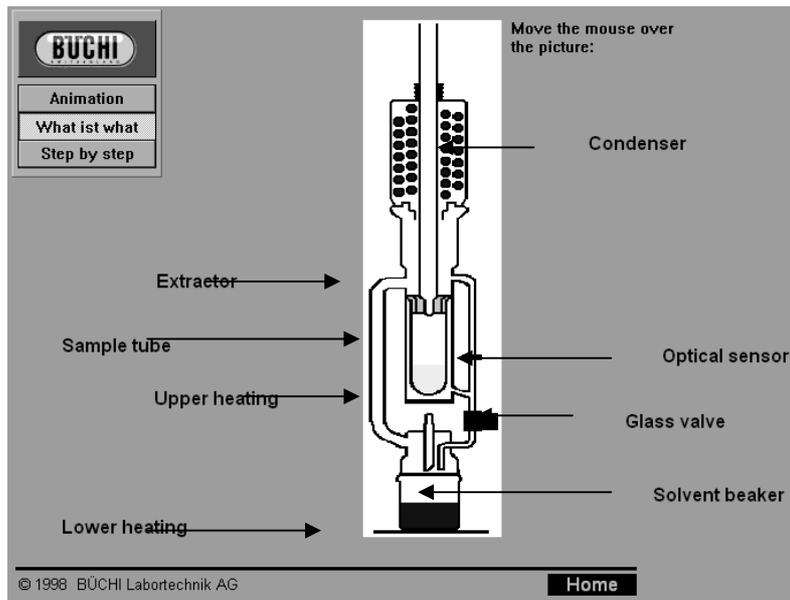
**BDE-154**



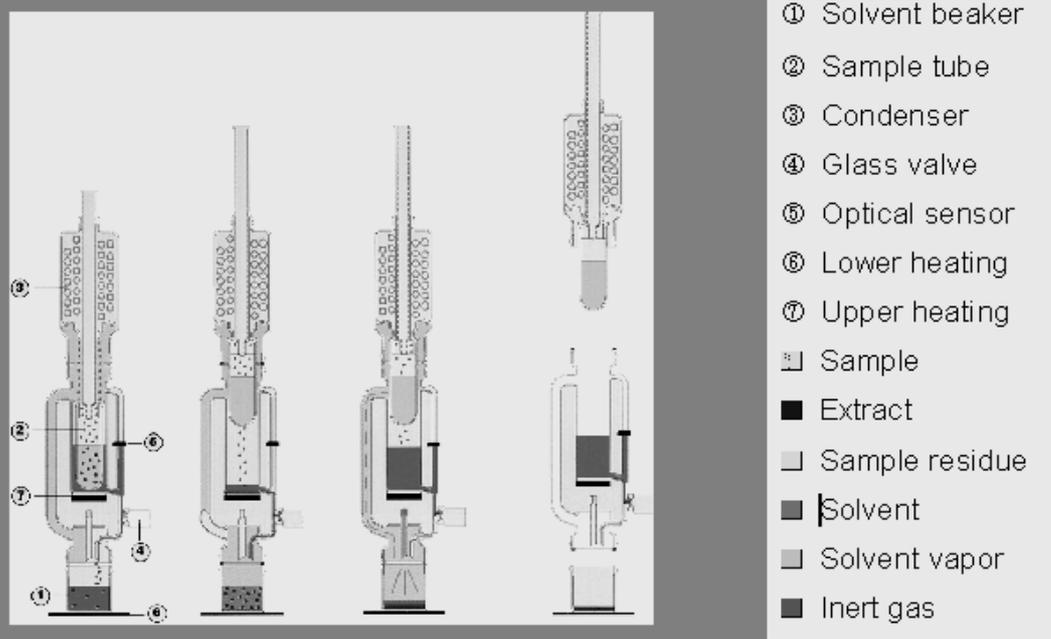
**BDE-209**



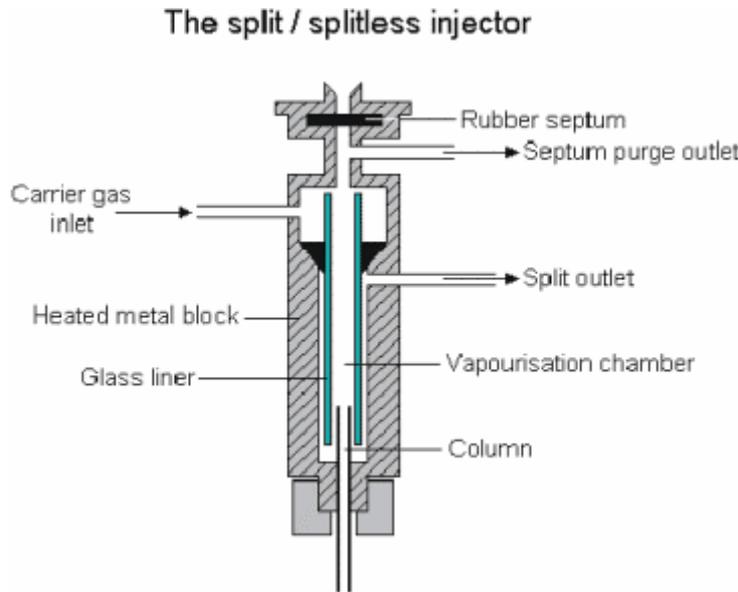
**ANNEXE 4 :** Schéma de fonctionnement du Soxhlet accéléré (Büchi Labortechnik®).



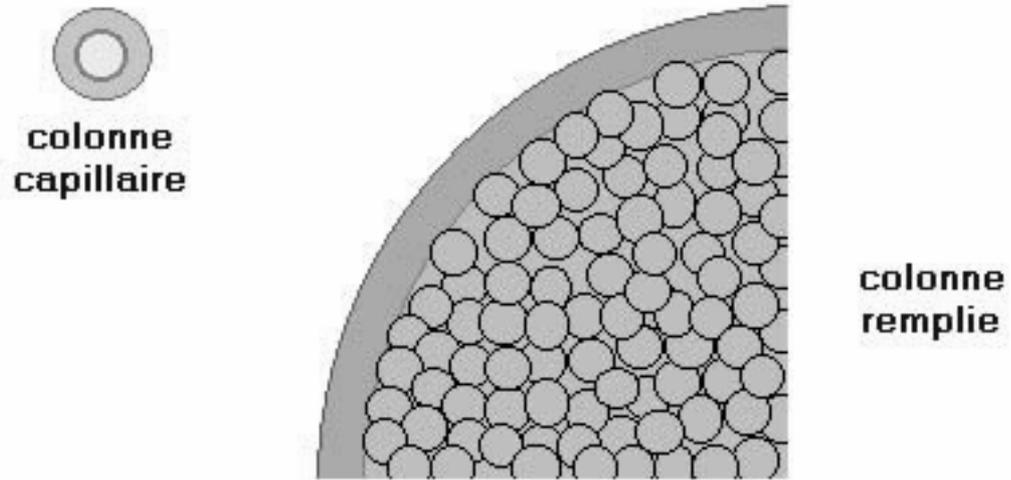
**Fig. 1 Automated extraction procedure with the BÜCHI Universal Extraction System B-811**



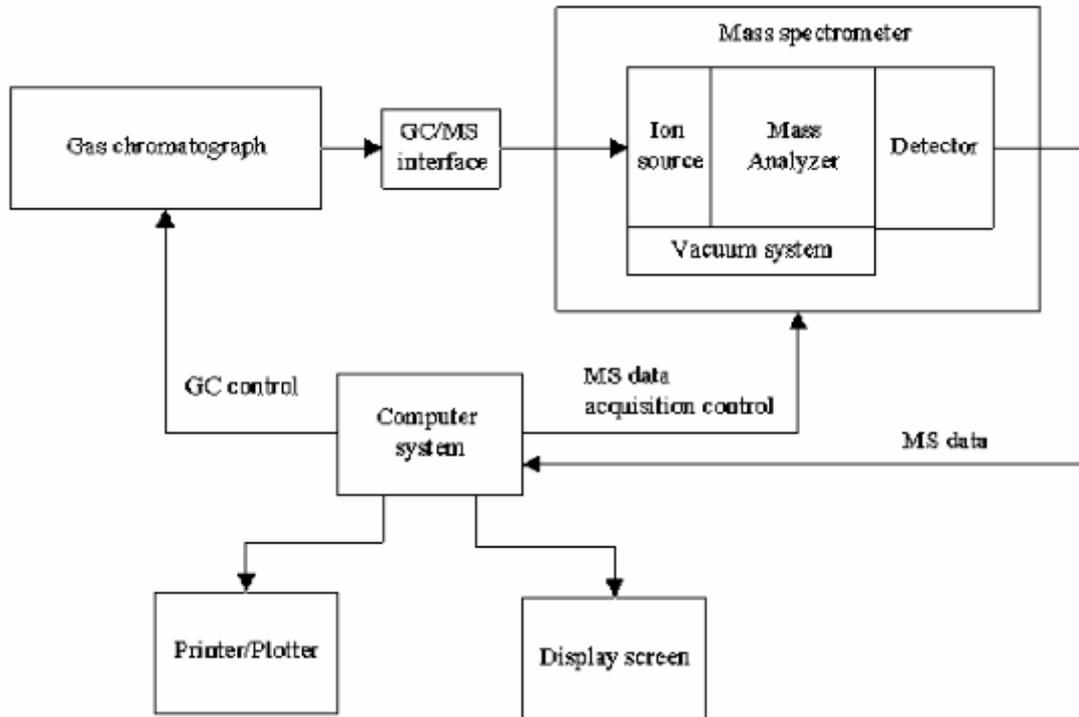
**ANNEXE 5 :** L'injecteur split/splitless (CNRS, 2004).



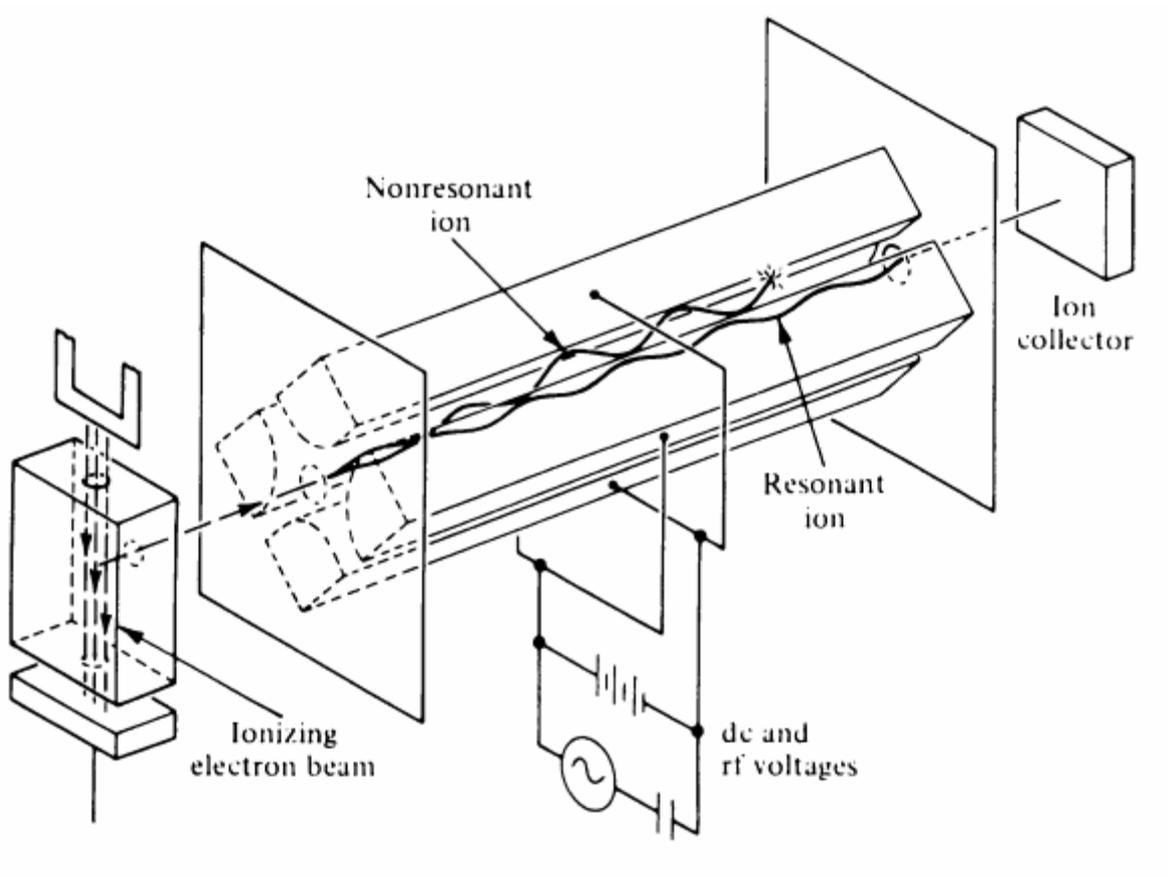
**ANNEXE 6 :** Schéma comparatif entre une colonne capillaire et une colonne remplie (CNRS, 2004).



**ANNEXE 7 :** Schéma du fonctionnement d'un chromatographe gazeux couplé à un spectromètre de masse (Morgan, 2000).



**ANNEXE 8 :** Schéma du trajet d'un ion résonnant et d'un ion non-résonnant à l'intérieur du spectromètre de masse quadripôle (Morgan, 2000).



**ANNEXE 9 :** Feuilles de calculs types utilisées pour modéliser les concentrations de BDE-47 et BDE-99 dans les organismes. La modélisation du BDE-99 prend en compte le phénomène de biotransformation.

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S				
<b>MODELE POISSONS PLATS</b>				<b>BDE-47</b>																		
<b>Données à entrer par l'utilisateur</b>																						
6	Concentration de BDE-47 dans l'eau	0,0005	ng/l																			
7	Température	14,5	°C																			
8	Concentration de chlorophylle a	19,1	µg/l																			
9	O <sub>2</sub> dissous	5,8	ml/l																			
10	Log Kau	4,81																				
11	Biomasse zooplanctonique	1,17	mg/l																			
12	Biomasse phytoplanctonique	2,86	mg/l																			
13	Fraction de carbone organique	0,82																				
14	Matières particulaires en suspension	120,00	mg/l																			
<b>Calculs préliminaires et résumé des données</b>																						
<b>Paramètres chimiques</b>										<b>Paramètres environnementaux</b>												
20	Conc. théor. de PBDE	47		Equation pour information										MHI								
21	log Kau	6,81		5.3*log(Kau)-7										Taux de lipides dans le phytoplancton (ng/g)		0,045						
22	Kau	646542		Log(phyto)-log(eau)*(1.033^*(log(eau)+log(p)-0.6025										Température (°C)		14,5						
23	Concentration dans l'eau : Cu (ng/l et µg/l)	0,0005	SE-07	17*log(Kau)-8										Chlorophylle a (µg/l)		19,1						
24	log phyto	0,84		Log(phyto)-log(eau)*(-0.9743*log(eau)+log(p)+13.43										O <sub>2</sub> dissous (ml/l)		5,8						
25	Concentration dans le phytoplancton : Cphyto	5,956												Biomasse zooplanctonique (mg)		1,17						
26	log k <sub>d</sub>	369403												Biomasse phytoplanctonique (g)		2,86						
27	Concentration dans les sédiments : Csed (ng/l)	0,19												Fraction de carbone organique		0,82						
28														POH (mg/l)		2,52						
29																						
30	Efficacité d'assimilation de contamination à partir de l'eau : alpha	0,305		log(alpha)-0.0014(log(Kau))^2+0.8374log(Kau)-2.218																		
31																						
32	Efficacité d'assimilation de contamination à partir d'une proie : beta	0,65		6-log(Kau)-7 beta-0.65																		
33				4.5*log(Kau)-6 beta-0.5																		
34	Efficacité d'assimilation de contamination à partir de matériel détritico : beta2	0,35		log(Kau)-7 beta-0.55																		
35																						
36																						
37																						
38																						
39																						
40																						
41																						
42																						
43																						
44																						
45																						
46																						
47																						
48																						
49																						
50																						
51																						
52																						
53																						
54																						
55																						
56																						
57																						
58																						
59																						
60																						
61																						
62																						
63																						
64																						
65																						
66																						
67																						
68																						
69																						
70																						
71																						
72																						
73																						
74																						
75																						
76																						
77																						
78																						
79																						
80																						
81																						
82																						
83																						
84																						
85																						
86																						
87																						
88																						
89																						
90																						
91																						
92																						
93																						
94																						
95																						
96																						
97																						
98																						
99																						
100																						
101																						
102																						
103																						
104																						
105																						
106																						
107																						
108																						
109																						
110																						
111																						
112																						
113																						
114																						
115																						
116																						
117																						
118																						
119																						
120																						
121																						
122																						
123																						
124																						
125																						
126																						
127																						
128																						
129																						
130																						
131																						
132																						
133																						
134																						
135																						
136																						
137																						
138																						
139																						
140																						
141																						
142																						
143																						
144																						
145																						
146																						
147																						
148																						
149																						
150																						
151																						
152																						
153																						
154																						
155																						
156																						
157																						
158																						
159																						
160																						
161																						
162																						
163																						
164																						
165																						
166																						
167																						
168																						
169																						
170																						
171																						
172																						
173																						
174																						
175																						
176																						
177																						
178																						
179																						
180																						
181																						
182																						
183																						
184																						
185																						
186																						
187																						
188																						
189																						
190																						
191																						
192																						
193																						
194																						
195																						
196																						
197																						
198																						
199																						
200																						
201																						
202																						
203																						
204																						
205																						
206																						
207																						
208																						
209																						
210																						
211																						
212																						
213																						
214																						
215																						
216																						
217																						
218																						
219																						
220																						
221																						
222																						
223																						
224																						
225																						
226																						
227																						
228																						
229																						
230																						
231																						
232																						

## **Recherches écotoxicologiques sur les retardateurs de flamme bromés dans les écosystèmes estuariens (estuaires de Loire et de Seine)**

Des triazines et des retardateurs de flamme bromés (les PolyBromoBiphényles (PBB) et les PolyBromoDiphénylEthers (PBDE)) ont été recherchés dans divers échantillons (sédiments et biota) issus des estuaires de Loire et de Seine.

Une omniprésence des PBDE dans ces environnements a été mise en évidence alors que les PBB n'ont jamais été détectés et les triazines ne l'ont été que de façon ponctuelle. Les niveaux de PBDE dans ces milieux peuvent être considérés comme modérés mais la biomagnification d'un PBDE (le BDE-47) a été démontrée dans ces deux estuaires. De plus, la présence de contaminants organiques dans l'environnement pourrait exercer une pression sélective sur les populations de flets et des génotypes résistants pourraient exprimer une bioaccumulation plus forte de ces contaminants.

Enfin, la consommation de produits de la mer contenant des PBDE aux niveaux déterminés ici n'est pas susceptible d'engendrer un risque important pour la santé des consommateurs.

*Mots-clés* : Retardateurs de flamme bromés (PBB et PBDE), triazines, estuaires, sédiments, biota, biomagnification.

## **Ecotoxicological research on brominated flame retardants in estuarine ecosystems (the Loire and Seine estuaries)**

Triazines and brominated flame retardants (PolyBromoBiphenyls (PBBs) and PolyBromoDiphenylEthers (PBDEs)) were examined in various compartments (sediments and biota) from the Loire and Seine estuaries.

In these environments, PBDEs have been detected in all the compartments whereas PBBs were never detected and triazines were detectable on few occasions only. The PBDE levels in these environments were moderate but the biomagnification of a PBDE (BDE-47) was demonstrated in both estuaries. Furthermore, the presence of organic contaminants in these environments could exert a selective pressure on flounder populations and resistant genotypes could express a strongest bioaccumulation of these contaminants.

Finally, the consumption of seafoods containing PBDEs at the concentrations here-determined may not engender an important risk for the consumer health.

*Keywords*: Brominated flame retardants (PBBs and PBDEs), triazines, estuaries, sediments, biota, biomagnification.