



Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE



**Journée technique d'information et de retour
d'expérience de la gestion des sites et sols pollués
Mardi 15 novembre 2016**

**Organisée par l'INERIS et le BRGM, en concertation
avec le Ministère de l'Environnement, de l'Energie et de
la Mer**

INERIS

maîtriser le risque
pour un développement durable

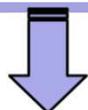


**Biodisponibilité et bioaccessibilité des
composés organiques dans le cas de
l'ingestion des sols
Etat des lieux des essais**

**Rabia BADREDDINE, INERIS
rabia.badreddine@ineris.fr**

Contexte général

EQRS: Prise en compte des **teneurs totales** en contaminants ingérés



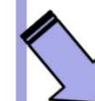
Surestimation potentielle des **expositions et** des risques sanitaires

Meilleure estimation de l'exposition et des risques



Seule la fraction extraite de la matrice ingérée et absorbée par l'organisme est susceptible de produire un effet toxique

Pour quantifier la fraction de composés organiques absorbée par l'organisme : recours à **la biodisponibilité** in vivo réalisée sur des animaux



Expérimentations assez lourdes à mettre en œuvre

La bioaccessibilité in vitro comme **alternative** pour estimer la fraction de contaminants absorbés par l'organisme via des essais laboratoires simulant la digestion gastro-intestinale

Définitions

Bioaccessibilité absolue : fraction mise en solution par la salive ou les fluides digestifs, dans le tractus gastro-intestinal.

$$\text{Bioaccessibilité absolue} = \frac{\text{Teneur extraite depuis le sol}}{\text{Teneur totale dans le sol}} \times 100$$

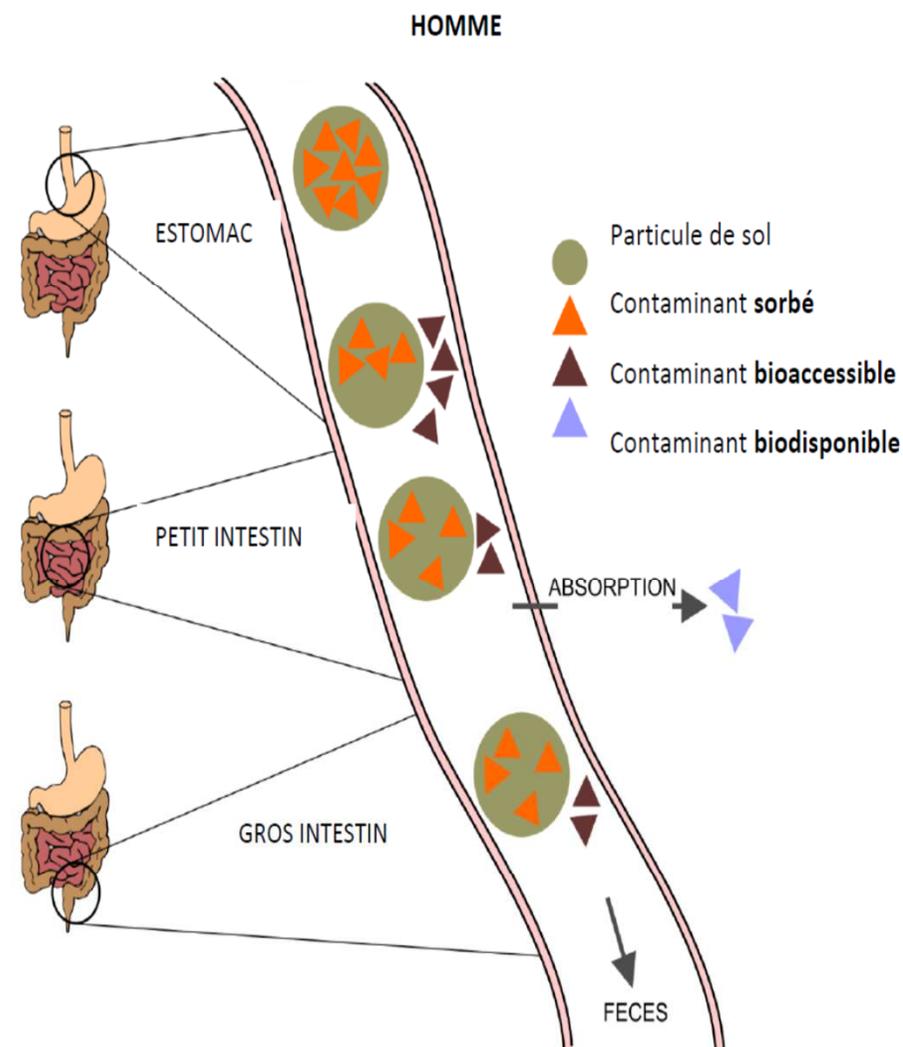
Biodisponibilité absolue : fraction du contaminant absorbée atteignant la circulation systémique. Elle s'exprime par le rapport entre la dose absorbée et la dose administrée.

$$\text{Biodisponibilité absolue (\%)} = \frac{\text{Dose absorbée}}{\text{Dose administrée}} \times 100$$

Bioaccessibilité relative : fraction extraite depuis le milieu d'exposition (sol) sur la fraction absorbée de ce même contaminant depuis la matrice prise en compte pour l'établissement de la VTR.

$$\text{Biodisponibilité relative (\%)} = \frac{\text{Dose extraite du sol}}{\text{Dose extraite de la matrice utilisée dans les études de toxicité}} \times 100$$

VTR: Valeur Toxicologique de référence



INERIS

maîtriser le risque |
pour un développement durable

Objectifs: Etude bibliographique

- Recenser les **essais de bioaccessibilité** et examiner leurs conditions expérimentales
- Identifier **les composés organiques** et les **matrices** considérées dans les différentes études et déterminer les gammes de valeurs de la bioaccessibilité des différents composés organiques
- Déterminer les **facteurs** spécifiques au sol **influençant** la bioaccessibilité et la biodisponibilité
- Recenser les études sur la **biodisponibilité** qui **valident** les essais de bioaccessibilité

Les normes relatives à la bioaccessibilité des composés organiques

La norme allemande **DIN 19738 (2004)** « **Bioaccessibilité des polluants inorganiques et organiques dans les sols pollués** »

- **métaux** dont l'arsenic, le plomb et le cadmium et **composés organiques** dont HAP, PCB et PCDD/F
- adaptable à **plusieurs matrices** comme les cendres volantes, les sédiments, les boues d'épuration, les déchets et les matériaux issus de l'extraction et du traitement
- **deux à trois phases** digestives (gastrique, intestinale et salivaire)

La norme **NF ISO 17402 (2011)** « **Qualité du sol : lignes directrices pour la sélection et l'application des méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans le sol et les matériaux du sol** »

- Principes et conditions limites des méthodes à utiliser et exigences minimales relatives au développement de méthodes
- **Métaux** (y compris **métalloïdes**) et les **contaminants organiques**

Protocoles des essais de la bioaccessibilité des composés organiques

Essai Composé	Présence/ absence aliment	Références
Org-PBET PCB PCDD/F	Absence d'aliment	Pays Bas: Oomen et al. (2001) USA: Ruby et al. (2002) USA: Pu et al. (2004) Chine: Tang et al. (2006) Australie: Juhasz et al. (2016)
IVD 16 HAP Benzo(a)pyrène		France : ZAGURY et al. (2014) Canada : James et al. (2011)
RBALP Benzo(a)pyrène		Canada James et al. (2011)
FOREhST HAP	Crème Porridge	Royaume Uni Lorenzi et al. (2012) Cave et al. (2010) France Zagury et al. (2014)
SHIME 1 6HAP	Hydrate de carbone	Belgique Van de Wiele et al. (2004)
RIVM Benzo(a)pyrène	Représentatif du régime alimentaire H et F de 9 à 68 ans du pays Bas	RIVM (2001)
DIN 19738 Métaux et inorganiques	Lait entier	Allemagne DIN 19738

Protocoles

Granulométrie : 45 µm à 2 mm

Prise d'essai : 3 à 20 g

Nombre de solutions : 2 à 3
(gastrique + intestinale ± salivaire)

Salivaire

4,5 – 30 ml

pH: 4,5 – 6,5

Durée : 5mn – 2h

Gastrique

9 – 200 ml

pH: 1,5 – 4,2

Durée : 1 – 2h

Intestinale

9 – 100 ml

pH: 1,5 – 4,2

Durée : 1 – 2h

PBET : Physiologically Based Extraction Test

FOREhST : Fed ORganic Estimation human Simulation Test

IVD : In Vitro Digestion Model

RBALP : Relatif Bioaccessibility Leaching Procedure

SHIME : Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem

RIVM : Essai de l'institut National néerlandais pour la santé publique et l'environnement

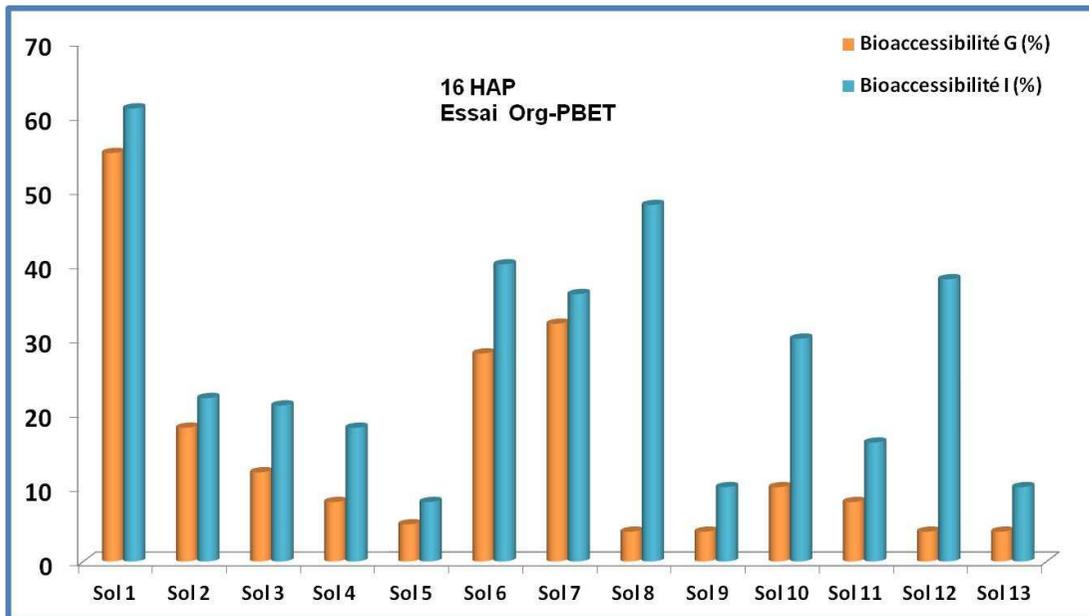
"Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu

DIN 19738 : Norme Allemande

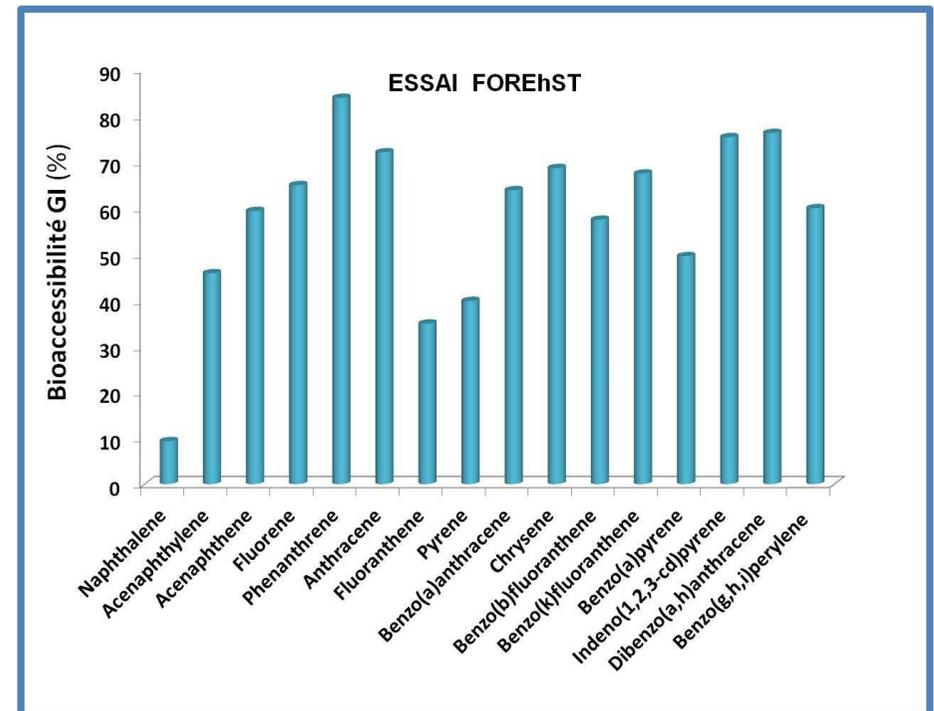
INERIS

maîtriser le risque |
pour un développement durable |

Gamme de valeurs de la bioaccessibilité des HAP dans le sol



Tang et al. (2006)

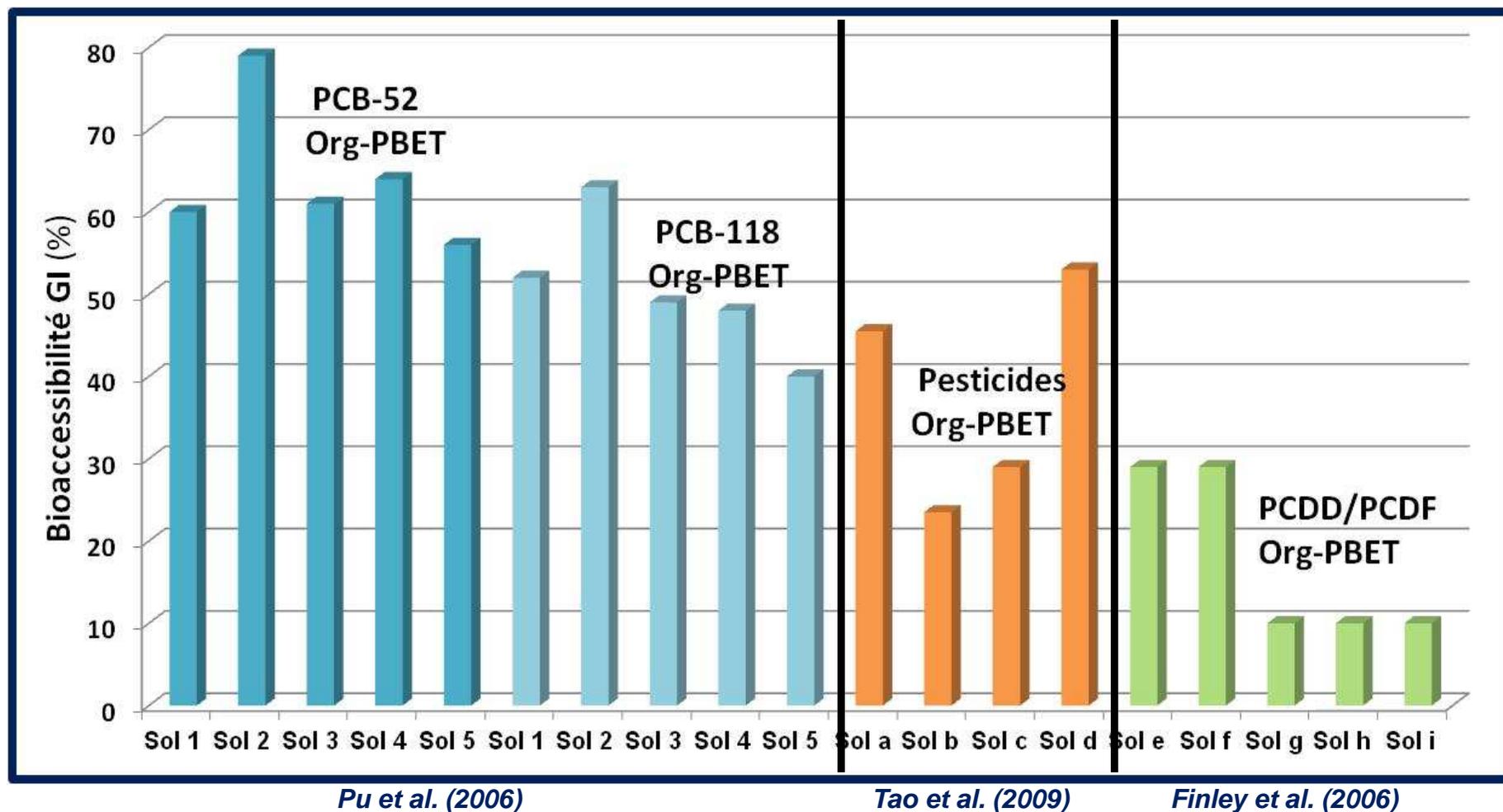


Lorenzi et al. (2012)

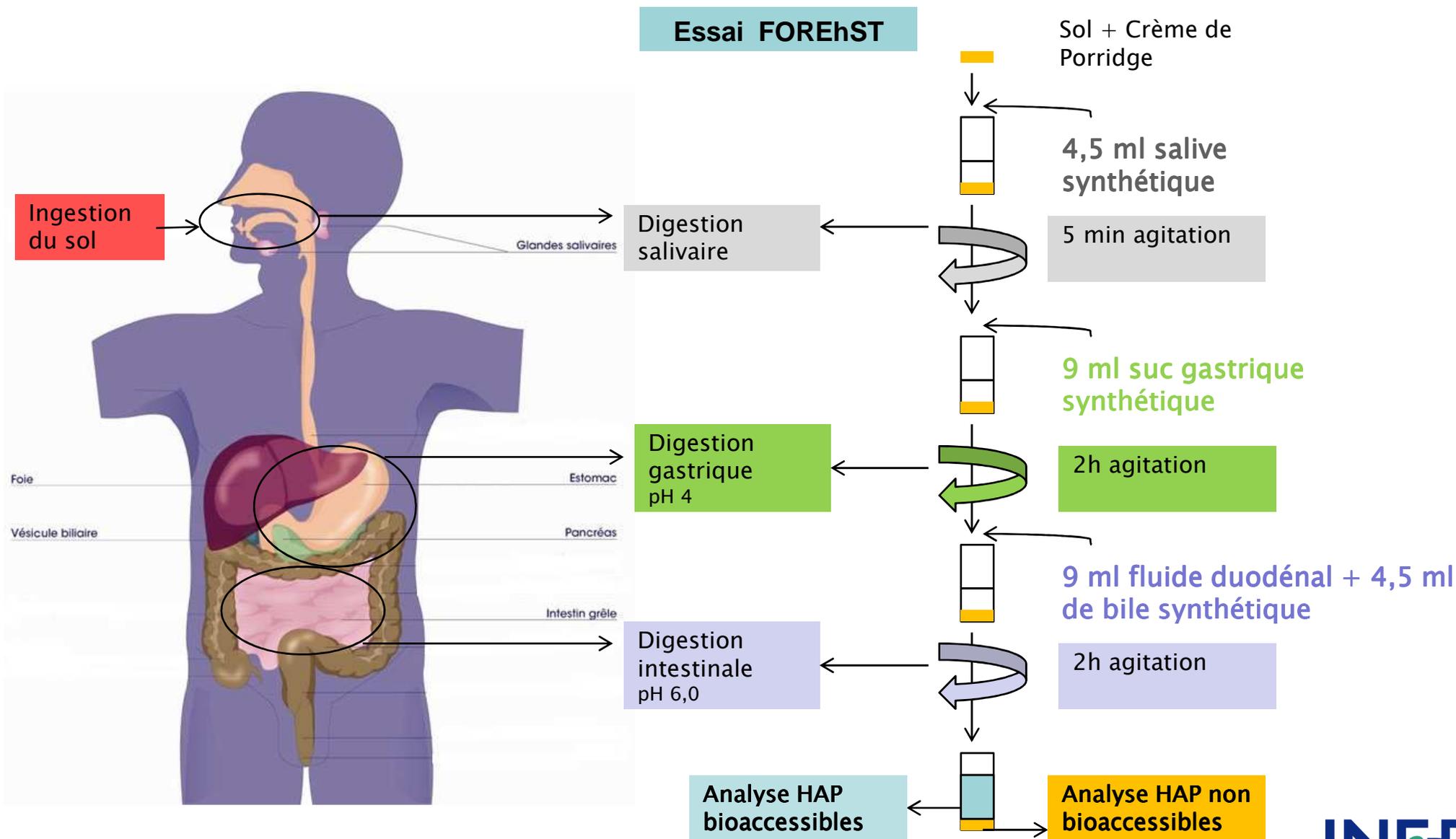
La bioaccessibilité gastro-intestinale (GI) varie en fonction du composé HAP, en fonction de la nature du sol

La bioaccessibilité intestinale des HAP est plus importante que la bioaccessibilité gastrique

Gamme de valeurs de la bioaccessibilité des composés organiques dans le sol

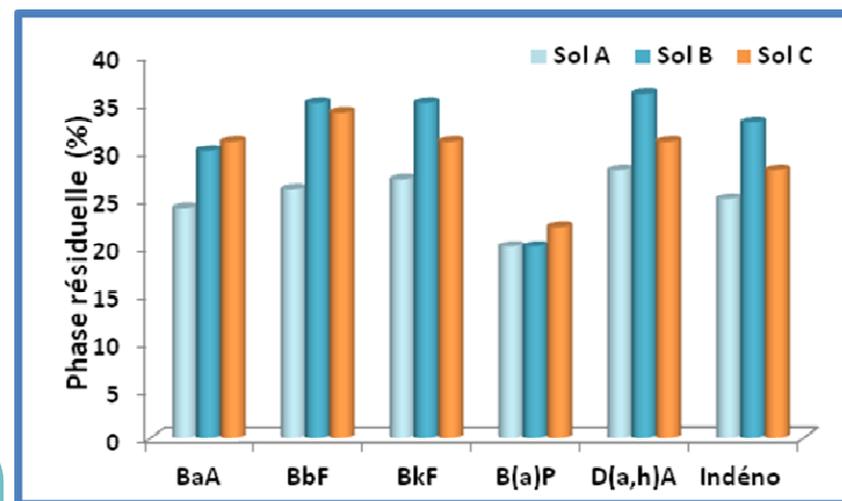
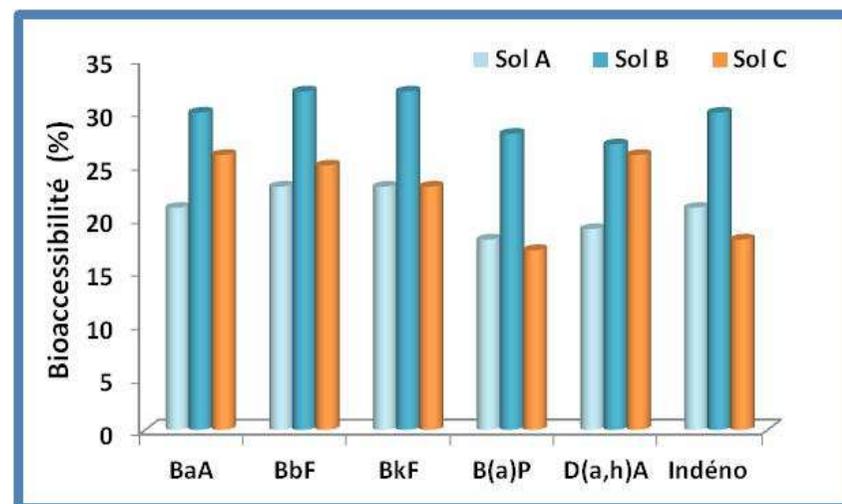


Le protocole de l'essai FOREhST utilisé à l'INERIS



Bioaccessibilité des HAP (Essai FOREhST utilisé à l'INERIS)

HAP	Teneur en HAP dans le sol (mg.Kg ⁻¹)	Bioacc. GI (%)	Teneur en HAP dans le sol (mg.Kg ⁻¹)	Bioacc. GI (%)	Teneur en HAP dans le sol (mg.Kg ⁻¹)	Bioacc. GI (%)
	Sol A		Sol B		Sol C	
Naphtalène	25,57	8%	15,94	13	-	-
Acénaphène	36,30	9%	22,69	18	-	-
Fluorène	33,81	12%	26,35	20	-	-
Phénanthrène	36,12	20%	28,91	28	-	-
Antracène	34,94	14%	27,21	24	-	-
Pyrène	36,06	25%	28,16	35	-	-
Benzo(a)anthracène	36,20	21%	28,73	30	28,1	26
Chrysène	36,53	23%	29,09	31	-	-
Benzo(b)fluoranthène	35,04	23%	27,85	32	32,3	25
Benzo(k)fluoranthène	36,21	23%	28,55	32	25,7	23
Benzo(a)pyrène	36,39	18%	28,80	28	38,8	17
Dibenzo(a,h)anthracène	37,65	19%	29,77	27	8,8	26
Benzo(g,h,i)Pérylène	37,17	20%	29,71	28	-	-
Fluoranthène	35,87	22%	28,46	30	-	-
Indène (1,2,3-cd)pyrène	36,54	21%	29,34	30	32,4	18



Fortems (2016)

Sol A et B: INERIS

Sol C: Lorenzi et al. 2012

Comparaison des résultats obtenus par l'essai FOREhST à l'INERIS et par Lorenzi et al. (2012)

La bioaccessibilité gastro-intestinale est du même ordre de grandeur dans les deux études

Le mode opératoire

- Nature et nombre de solutions digestives
- pH
- Temps de résidence
- Prise d'essai
- Constituants alimentaires
- Ratio L/S

Les caractéristiques du sol

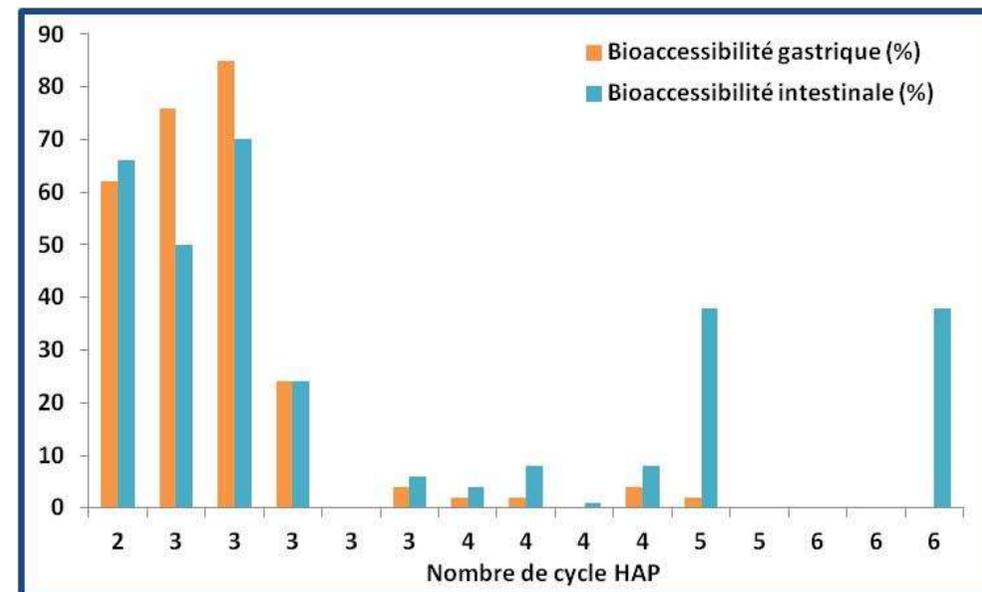
- Teneur et composition en matière organique du sol
- Granulométrie

La nature du composé

- Degré de chloration des PCDD
- Nombre de cycles des composés HAP

Influence du nombre de cycles des HAP et des caractéristiques du sol sur la bioaccessibilité

Composé	Nombre de cycle	Bioaccessibilité (%)		Solubilité ($\mu\text{g.l}^{-1}$)/h
		Gastrique	Intestinale	
Naphthalene	2	62	66	$3,17 \cdot 10^4$
Acenaphthylene	3	76	50	$3,93 \cdot 10^3$
Acenaphthene		85	70	$3,42 \cdot 10^3$
Fluorene		24	24	$1,98 \cdot 10^3$
Phenanthrene	4	-	-	$1,29 \cdot 10^3$
Anthracene		4	6	73
Fluoranthene		2	4	260
Pyrene	5	2	8	135
Benzo(a)anthracene		0	1	14
Chrysene		4	8	2,0
Benzo(b)fluoranthene	6	2	38	1,2
Benzo(a)pyrene		0	0	3,8
Indeno(1,2,3-cd)pyrene		0	0	62
Dibenzo(a,h)anthracene	6	0	0	0,5
Benzo(g,h,i)perylene		0	38	0,26

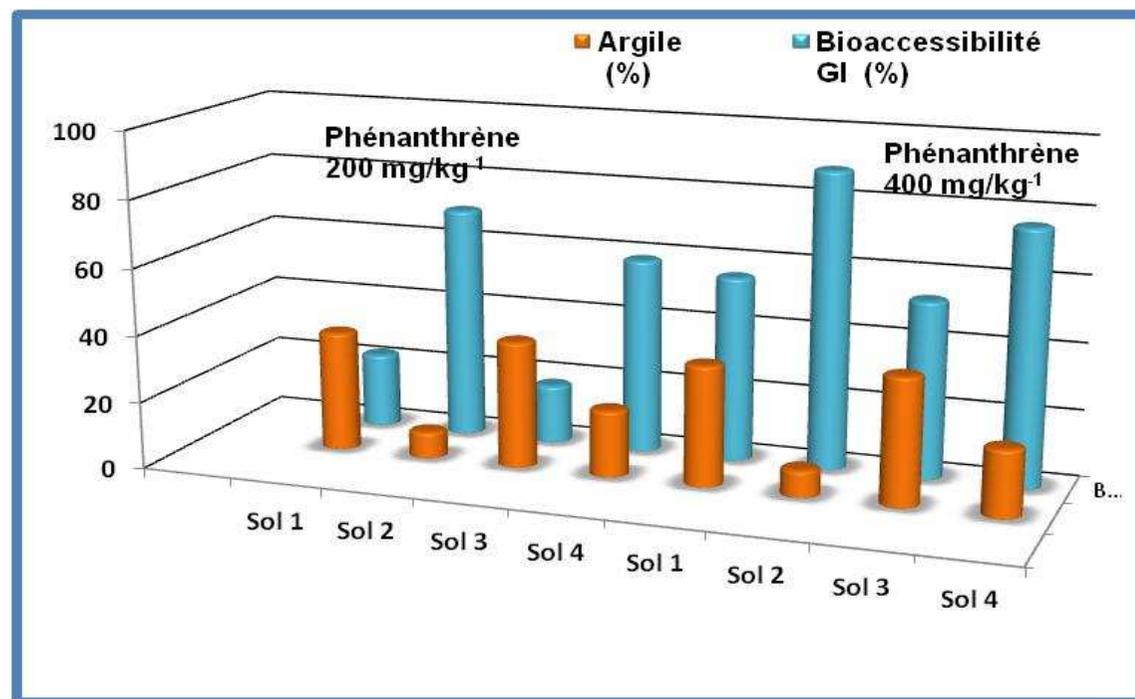


Tang et al. (2006)

La bioaccessibilité gastrique et intestinale des HAP varie avec le nombre de cycles HAP en lien avec la solubilité.

Influence des caractéristiques du sol sur la bioaccessibilité des HAP

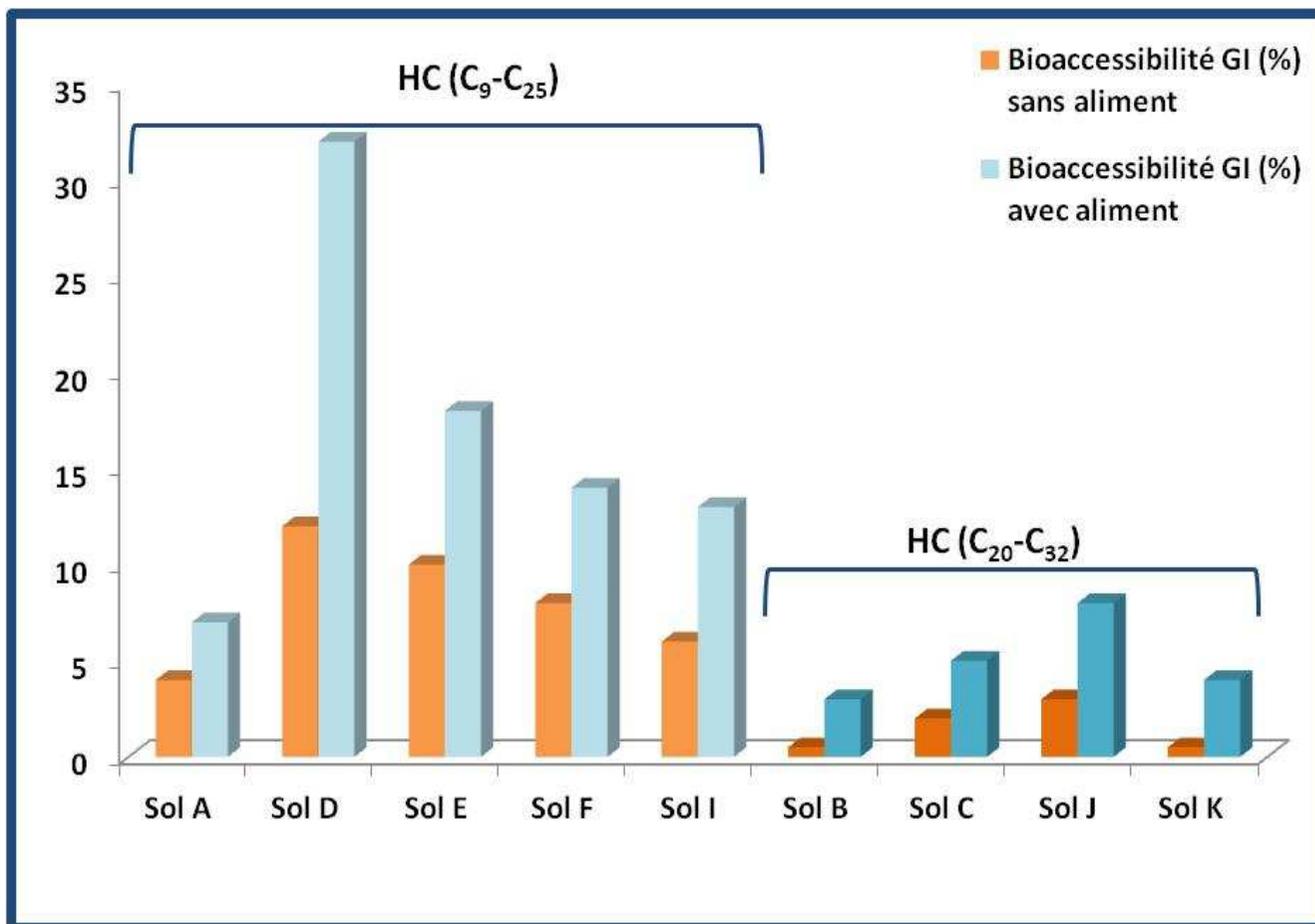
La bioaccessibilité du phénanthrène dépend généralement de la teneur en argiles



Pu et al. (2004)

Composé	Propriété	Matière organique (%)	Argile (%)	Teneur (mg,Kg ⁻¹ MS)	Bioaccessibilité GI (%)
Phénanthrène	Sol 1	0,7	36	200	22,4
	Sol 2	0,52	8		69,8
	Sol 3	1,74	38		17,7
	Sol 4	1,39	20		58,6
	Sol 1	0,7	36	400	55,5
	Sol 2	0,52	8		88,8
	Sol 3	1,74	38		53
	Sol 4	1,39	20		76,2

Influence de la prise en compte des aliments sur la bioaccessibilité des hydrocarbures



Holman et al. (2002)

Essai Org-PBET :

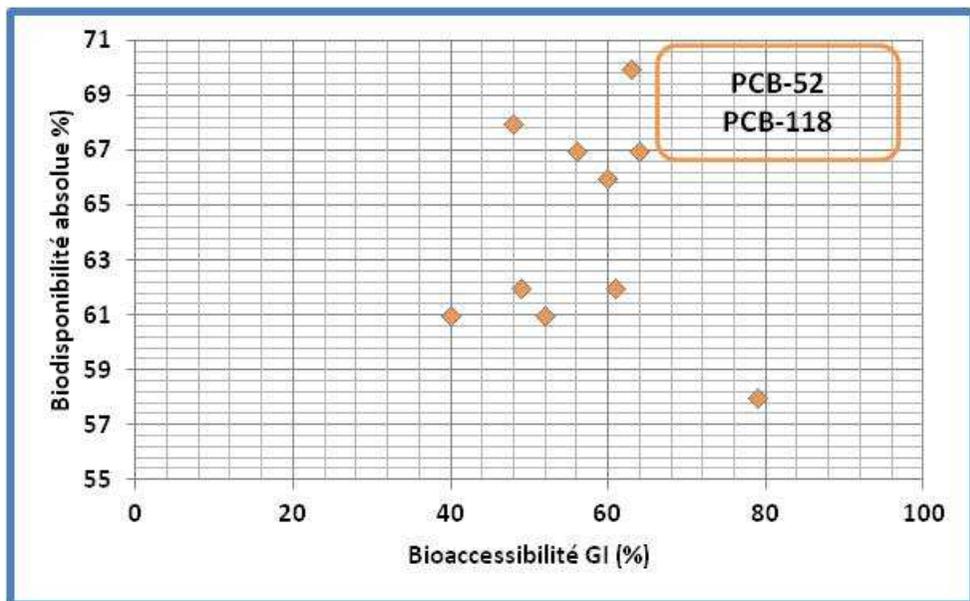
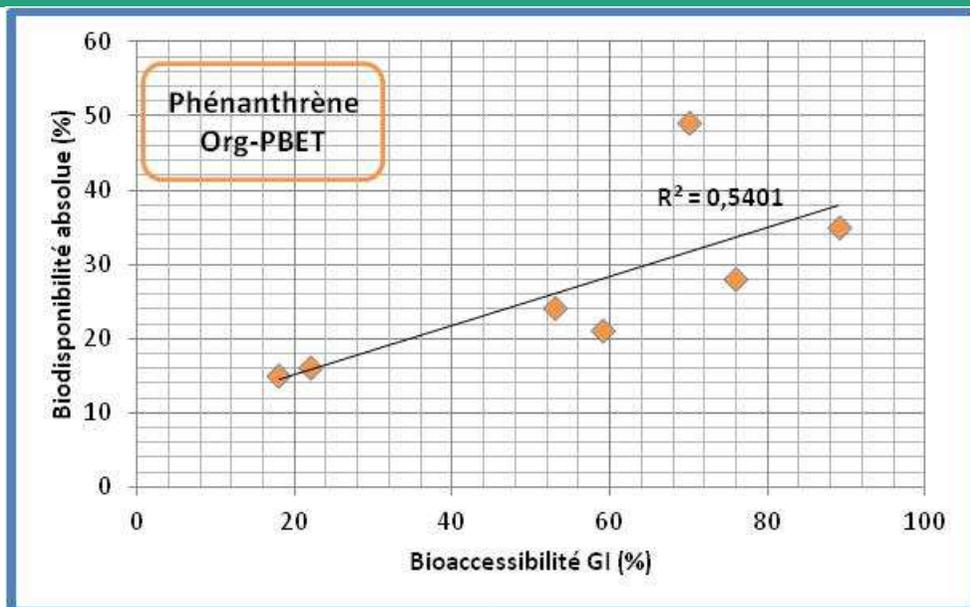
La bioaccessibilité des hydrocarbures augmente avec la présence d'aliment

La bioaccessibilité gastrique et intestinale diffère selon la composition des hydrocarbures

Biodisponibilité : expérimentations

- Les expérimentations de biodisponibilité des composés organiques sont réalisées sur des animaux tels que des **porcs**, des **porcelets** ou des **rats**
- Les études de biodisponibilité ont concerné les **HAP**, les **PCB** et les **PCDD/F**
- Les organes cibles sont généralement le **foie**, le **tissu adipeux**, parfois le muscle
- La biodisponibilité absolue est obtenue en injectant la solution par voie intraveineuse
- La biodisponibilité relative est déterminée en utilisant une matrice de référence généralement l'huile de maïs contenant le composé testé ou un matériau de référence sous forme alimentaire
- Plusieurs modes d'administration de sol possibles : sol sous forme alimentaire, en suspension dans une solution

Bioaccessibilité et biodisponibilité



Composé	Essai	Bioacc/biodisp	Référence
Benzo(a)pyrène	IVD	Corrélation (présence de la membrane C ₁₈)	James et al. (2011)
	RBALP	Pas de corrélation	
	Org-PBET	Corrélation	Gron et al. (2011)
Phénanthrène	Org-PBET	Corrélation	Pu et al. (2004)
PCDD/F	Org-PBET	Corrélation	Finley et al. (2009)
PCB-118,-52	Org-PBET	Pas de corrélation	Pu et al. (2006)

Conclusions (1/2)

- La bioaccessibilité orale des composés organiques dans le sol est déterminée généralement par des essais physiologiques d'extraction gastro-intestinale
- Ces essais se différencient par **le mode opératoire** : la nature et le nombre de solutions digestives, le pH, le temps de résidence, la prise d'essai et la granulométrie, la présence ou non d'aliment, la nature des aliments et le ratio L/S
- La bioaccessibilité est influencée par
 - **les caractéristiques physico-chimiques du sol** : la teneur et composition en matière organique et la granulométrie
 - **la nature du composé** : le degré de chloration des PCDD et le nombre de cycles des composés HAP

Conclusions (2/2)

- Les composés organiques pour lesquels des données sont disponibles actuellement sont les **PCB**, les **PCDD/F**, les **pesticides**, les **hydrocarbures**, les **phthalates** et les **HAP (USA, Royaume Uni, Chine)** ;
- **En Allemagne**, l'essai de la bioaccessibilité sur le sol est **normalisé**
- Gammes de valeurs de bioaccessibilité :
 - **PCB** : 40 à 80%
 - **16 HAP** : 1 à 72% et selon HAP : 9 à 84%
 - **Pesticides** organo-chlorés : entre 25 et 55%
 - **PCDD/F** : inférieure à 30%
 - **Hydrocarbures** : inférieure à 15%

En France, détermination de la bioaccessibilité des HAP (essai **FOREhST** le plus couramment utilisé) :

- **Homogénéisation des pratiques** en termes d'essai
- Adaptation du mode opératoire de l'essai **FOREhST** (aliment et rendement)
- Comparaison des résultats obtenus par les essais **DIN et FOREhST**
- Réalisation d'essais de **comparaisons inter-laboratoires**
- Réalisation d'**études in vivo** sur différents composés organiques
- Développements pour la prise en compte dans les **calculs** d'exposition et des **risques sanitaires**

MERCI DE VOTRE ATTENTION