



Redonnons au sol sa valeur

Projet 4 : Ecotoxicologie

La complémentarité des bioessais et de la bioanalyse dans la compréhension des risques écotoxicologiques sur les sols pollués

Maximilien Delafoulhouze et Jean-François Lascourreges

Séminaire - Arcachon, 6 Octobre 2015

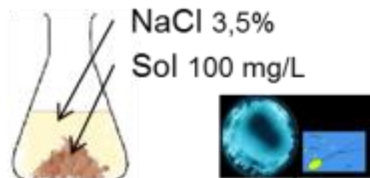


Objectifs de l'étude :

- Etape 1 : Sélection d'une batterie de bioessais à appliquer sur des sites ateliers afin d'identifier les zones contaminées (Jean-François Lascourreges)
- Etape 2 (étude bioanalytique) : Identification des composés responsable des effets biologiques en associant de bioessais et d'analyses chimiques (Maximilien Delafoulhouze)



Etape 1 : Choix des bioessais



BACTERIES

Vibrio fischeri

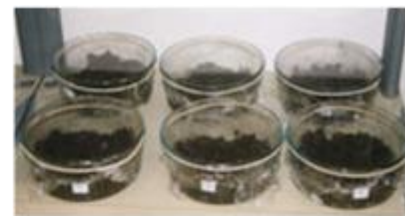
➤ CE₅₀ 20min



VEGETAUX

Blé, Sorgho, Cresson,
Moutarde, Tomate, Laitue

- Biomasse aérienne fraîche
- Longueur de racines
- Longueur de tiges



VERS DE TERRE

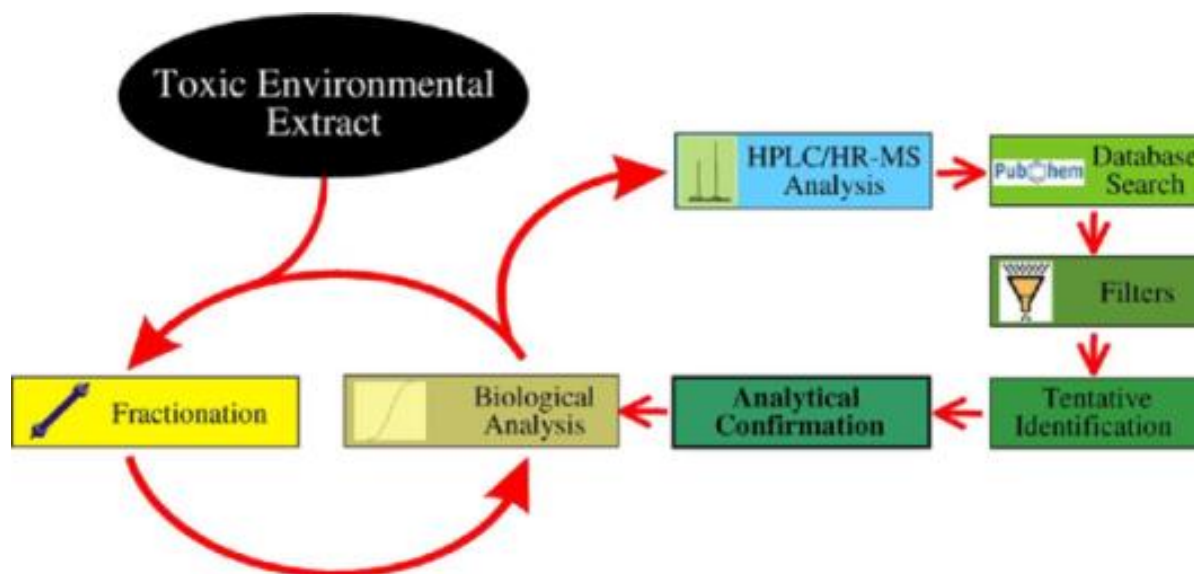
Eisenia fetida

- Mortalité
- Perte de biomasse



Etape 2 : L'analyse dirigée par les effets (EDA)

- Travail réalisé sur des extraits de sols
- Sélection du ou des sols représentatifs de la contamination grâce à des analyses biologiques et chimiques (criblage)
- Séparation des composés grâce à un fractionnement physico-chimique (basé sur la polarité) couplée à des bioessais pour identifier des molécules biologiquement actives





Les sites d'études

Site A

Créosote => HAP et phénols



- 21 sols échantillonnés
- Dont 2 témoins -

Site B

Métaux (+HAP)



- 14 sols échantillonnés

Site C

Hydrocarbures + Métaux



Zone usine

Zone saligue

Bioanalyse et EDA

- 6 sols d'usine
- 5 sols de milieu naturel



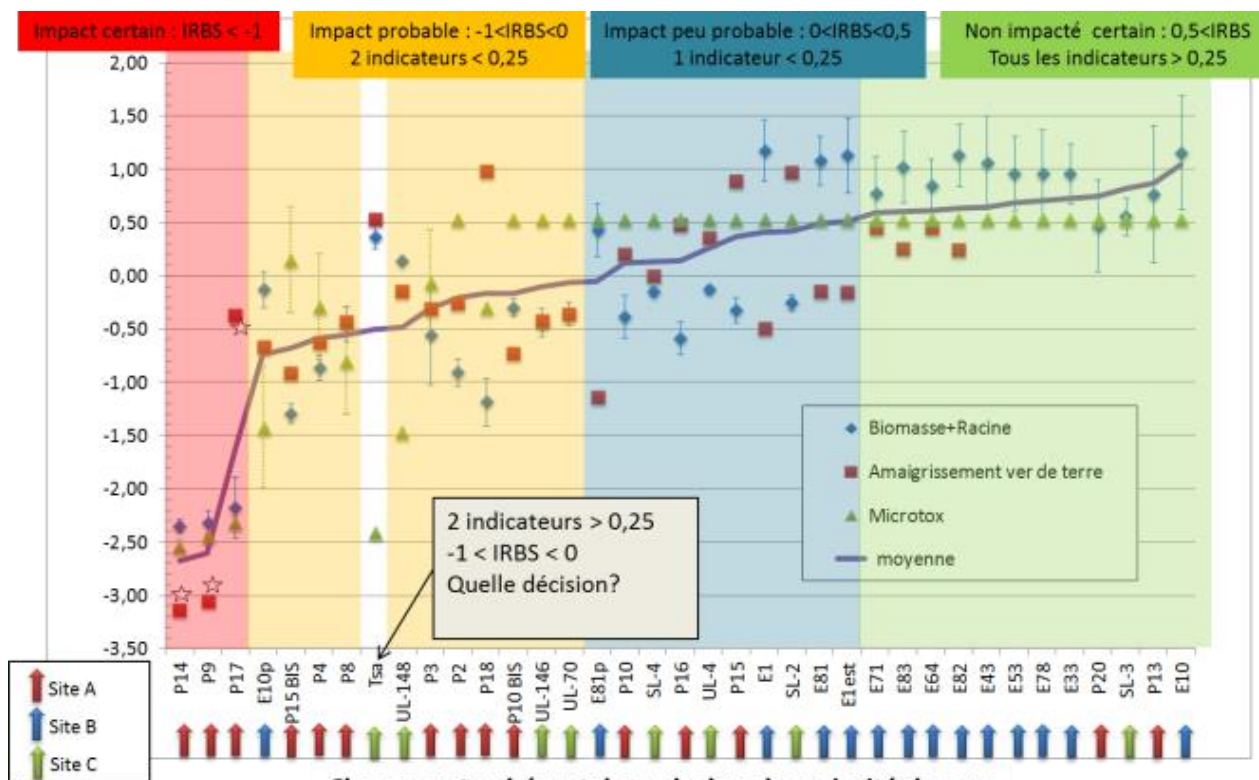
Résultats des bioessais sur échantillons de sol

Écoscore : Indice de Réponse Biologique du Sol (IRBS)

IRBS = moyenne (Biomasse+Racine, perte de masse Ver, Microtox)

Classement de l'impact des sols en fonction :

- ✓ des valeurs de l'indice
- ✓ de critères semi-quantitatifs: nombre d'indicateurs impactés < 0,25



Classement cohérent des sols dans la majorité des cas

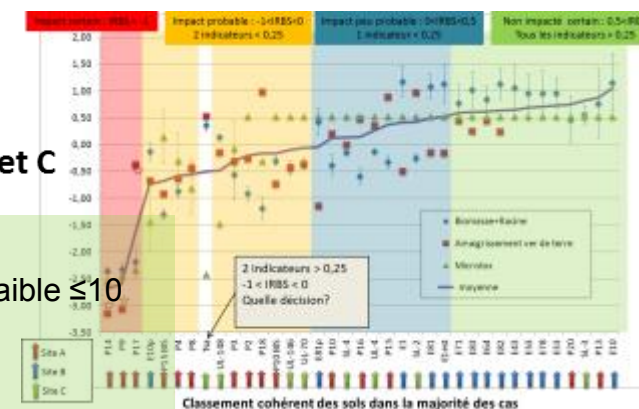
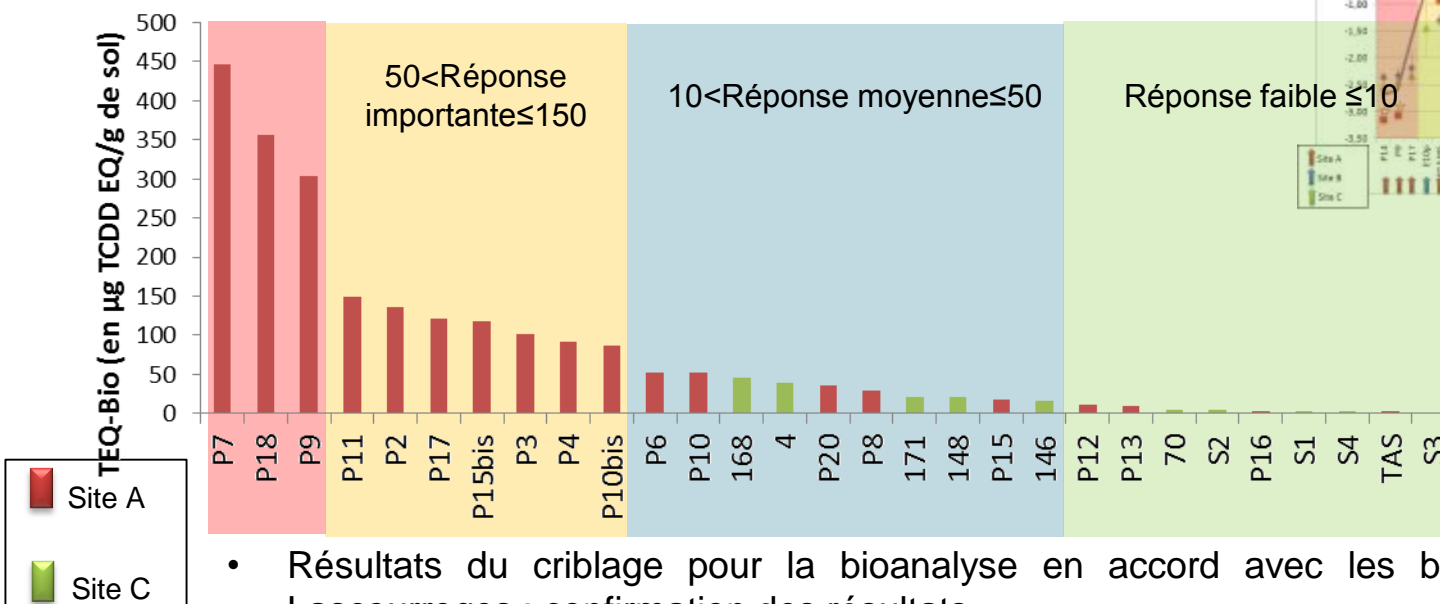
**Discrimination
des sols en
fonction de leur
impact
biologique**



Criblage des sols pour la bioanalyse

- Un seul bioessai positif: Test AhR (HAP)

Comparaison des activité biologiques (AhR) entre les sols des sites A et C



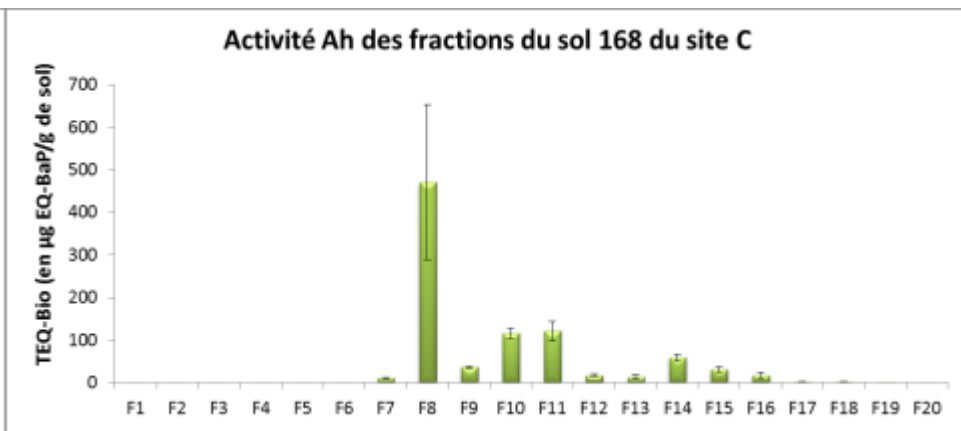
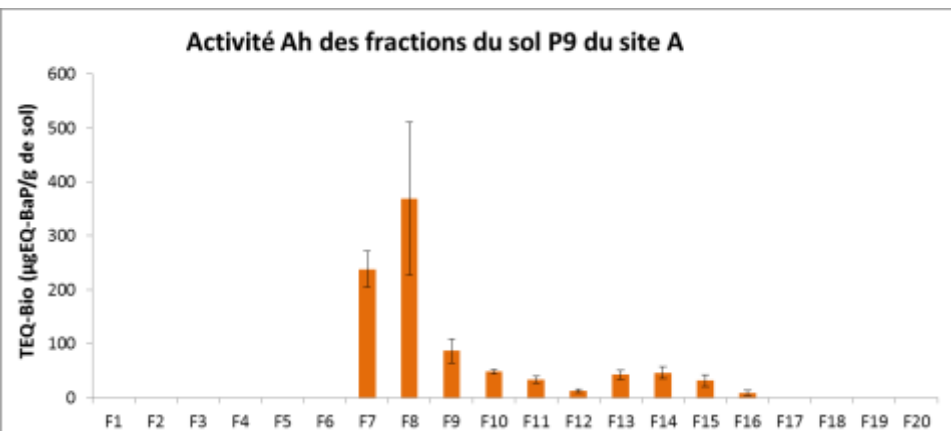
- Résultats du criblage pour la bioanalyse en accord avec les bioessais de Jean-Francois Lascourreges : confirmation des résultats.
- Différence quantitative et non qualitative de la contamination des sites étudiés
- Sélection du sol **P9 (site A)** et **168 (site C)** pour une **bioanalyse** et une caractérisation chimique plus poussée



Résultats de la bioanalyse (Fractionnement et tests biologiques)

Site A

Site C



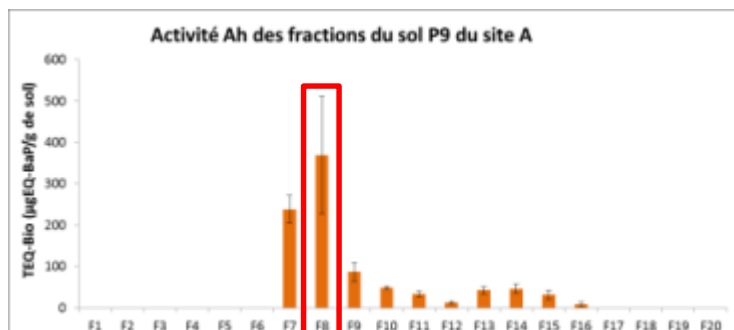
Polarité

- Profils de fractionnement similaires
- Analyse chimique des fractions positives, identification des composés et détermination de leur activité biologique



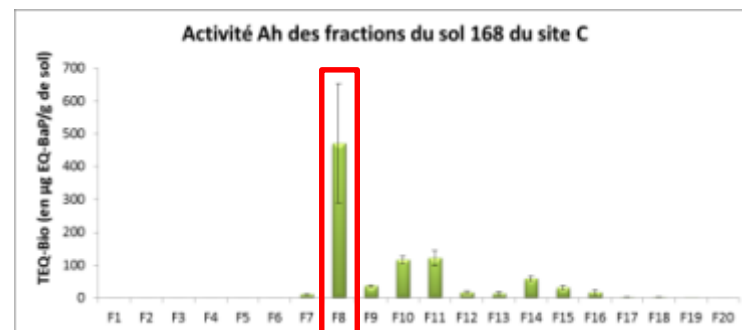
Identification des composés

Site A



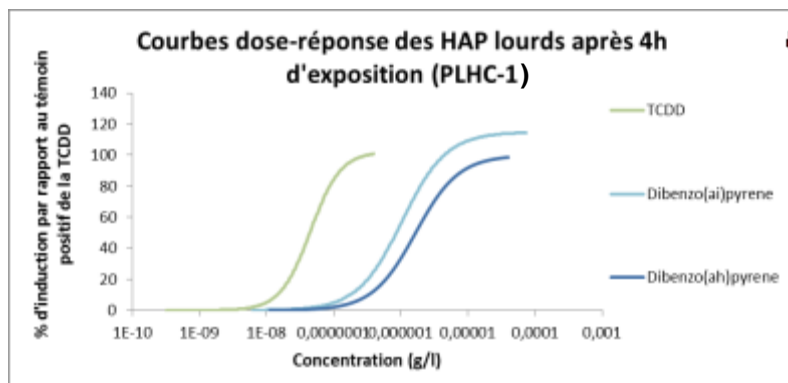
70% de l'activité
biologique expliquée par
les 16 HAP de la liste de
l'US-EPA

Site C



21% de l'activité
biologique expliquée par
les 16 HAP de la liste de
l'US-EPA

Fraction 8

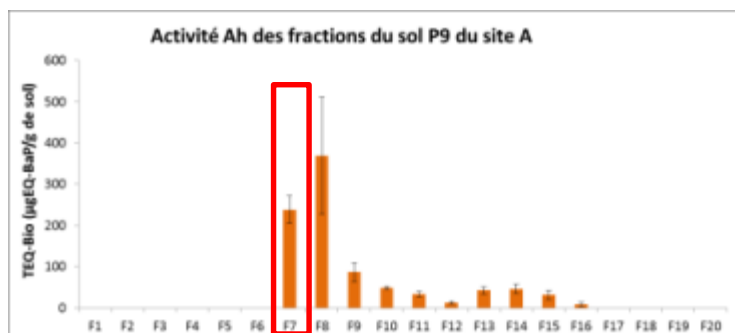


Présence de HAP lourds dans
l'extrait du sol du site C qui
expliquent la différence d'activité
biologique expliquée.

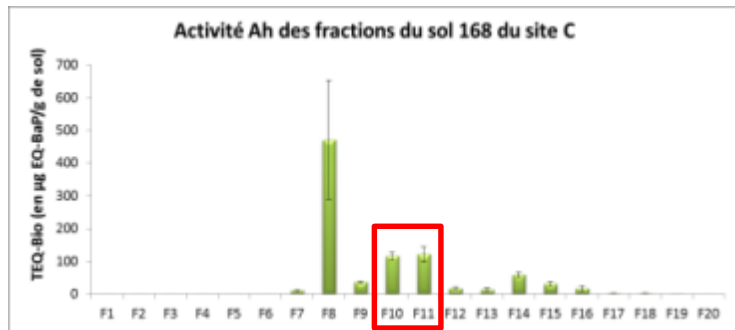


Identification des composés

Site A

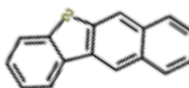
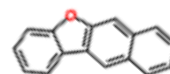
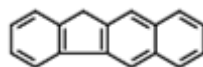
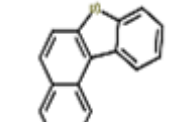
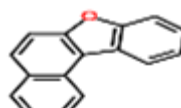
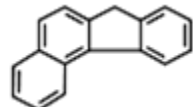
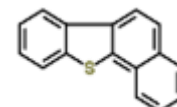
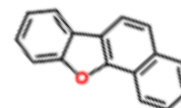
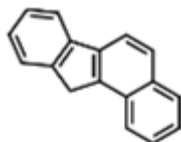


Site C

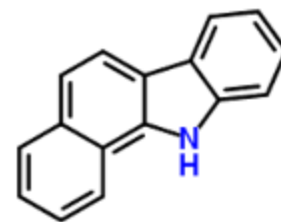
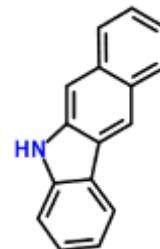
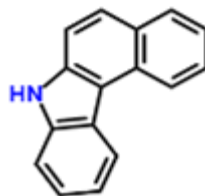


Identification d'une famille de composés très actifs présents sur les deux sites (HAP et CAP aux structures similaires

Fraction 7 du site A



Fraction 10 et 11 du site C





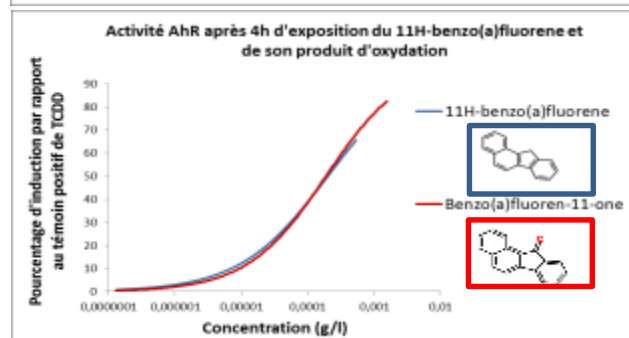
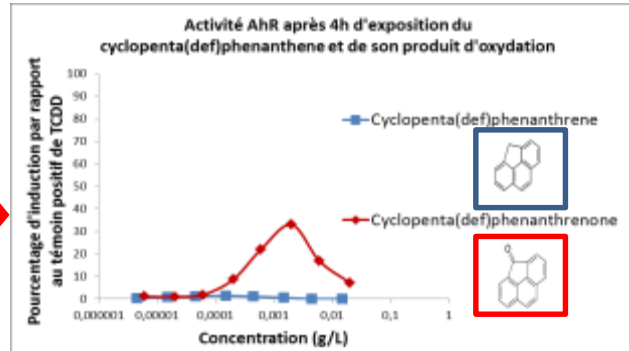
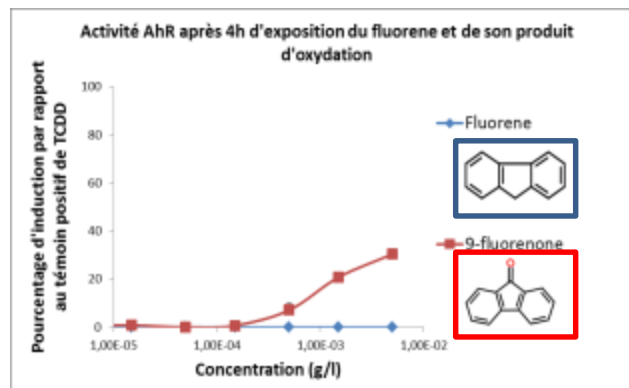
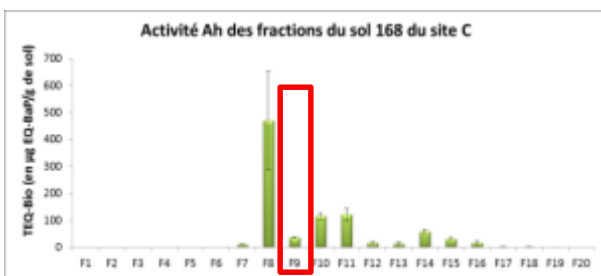
Lien structure-activité : confirmation

Fraction 9 : Elution des produits d'oxydation du HAP

Site A



Site C



- ✓ Molécules plus présentes sur le site A
- ✓ Si la molécule est inactive, l'oxydation augmente l'activité de la molécule
- ✓ Formation possible des Oxy-HAP lors de la remédiation des sols par des techniques oxydantes ou vieillissement de la pollution
- ✓ Risque environnemental?



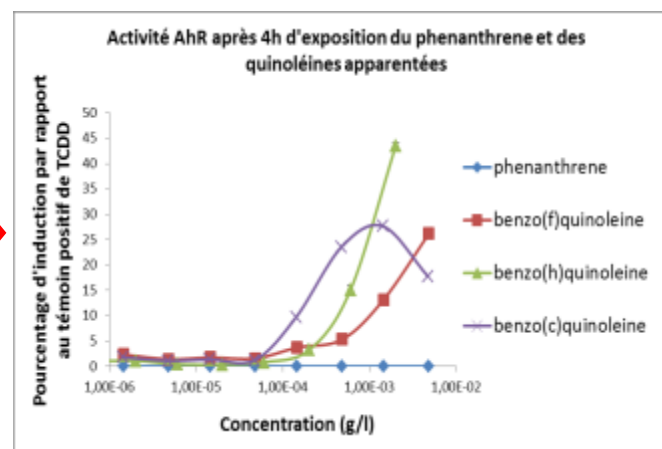
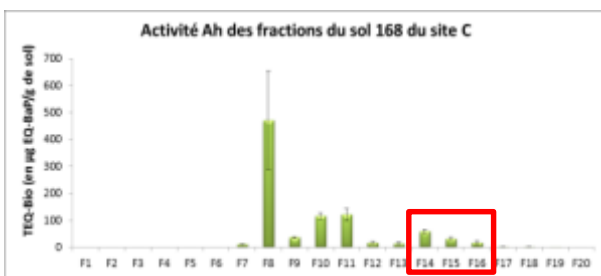
Lien structure-activité : confirmation

Fractions 13,14, 15 et 16
Elution de CAP avec des N-Heterocycles

Site A



Site C



- Molécules présentes en faible quantité
- Comportement similaire aux Oxy-HAP
- Risque environnemental?



Résultats de l'analyse dirigée par les effets

- Présence de HAP (autres que les 16 de l'US-EPA)
- Présence de composés aromatiques polycycliques (CAP) avec des O-, S- et des N- hétérocycles
- Présence de produits d'oxydation des HAP
- Au total, 42 molécules identifiées et testées. 24 ont été positives pour le bioessai impliquant le récepteur Ah



Conclusion :

- Réponses des 3 biotests globalement similaires et en accord avec les résultats des tests biologiques utilisés pour la bioanalyse
- EDA : identification de structures précises et de contaminants biologiquement actifs non pris en compte lors des diagnostics
- Complémentarité des deux approches qui permettent d'identifier les zones contaminées (bioessais sur échantillons de sols) et d'associer des effets biologiques à des structures précises (bioanalyse et EDA)

Perspectives :

- Approches à appliquer sur d'autres sites : confirmation de la robustesse des outils
- Outils auto-apprenants, s'enrichissant des essais menés sur d'autres sites (EDA: création possible d'une base de données)
- EDA: application aux eaux souterraines, développement d'autres bioessais...

Merci de votre attention

