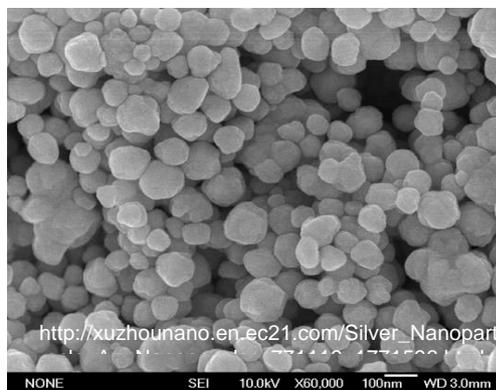


Convention AEAG 2014

Etude bibliographique sur les nanoparticules métalliques (NPM_e) dans les systèmes aquatiques.

J. Schäfer, M. Mikolaczyk, G. Blanc



AVIS du conseil scientifique

Etat de l'art sur les nanoparticules

Avis du Conseil Scientifique du comité de bassin Adour-Garonne sur le rapport « Etude bibliographique sur les nanoparticules métalliques dans les systèmes aquatiques » par J. Schäfer, M. Mikolaczyk et G. Blanc (EPOC, Université de Bordeaux)

Objet de la commande de l'Agence à l'Université de Bordeaux (UMR CNRS 5805 EPOC, Equipe TGM, Jorg Schäfer)

L'objet de la commande est une étude bibliographique constituant une première approche de la problématique des nanoparticules métalliques (NP Me) dans les systèmes aquatiques afin de recenser :

- les principales sources en lien avec les applications techniques et usages ;
- les modes d'émission et de transport vers les systèmes aquatiques ;
- le comportement des NPMe dans les gradients biogéochimiques ;
- le potentiel de contamination des compartiments biologiques qui en résultent.

Cette étude bibliographique doit conduire à une synthèse générale de l'état des connaissances sur cette thématique et prévoit une mise en perspective des implications plus spécifiques concernant les systèmes aquatiques régionaux.

L'aide attribuée à l'équipe de recherche par l'AEAG est de 12 300 €, soit 50 % du montant global estimé de l'étude.

Communications et échanges avec le Conseil Scientifique du comité de bassin Adour-Garonne

- Première présentation par Jorg SCHÄFER devant le CS du 11 Juin 2014 à Toulouse
- Seconde présentation par Jorg SCHÄFER devant le bureau élargi du CS, en décembre 2014 à Bordeaux
- Analyse du rapport par 4 experts « Physico-chimie de l'eau » du CS
- Echange en session plénière du CS, le 19 mars 2015 à Toulouse

Résumé de l'étude effectuée et du rapport définitif

Après présentation d'un premier rapport, suivie d'une demande de compléments par le CS, le rapport définitif a été remis au CS en décembre 2014. Ce rapport comprend 18 pages.

Outre les références bibliographiques, ce rapport comprend 5 parties, conformément à la commande, portant sur :

- les caractéristiques structurales des nanoparticules métalliques (NPMe) ;
- les principales sources en lien avec les applications techniques et les usages ;
- les modes d'émission et de transport vers les systèmes aquatiques ;
- le comportement des NPMe dans les gradients biogéochimiques ;
- le potentiel de contamination des compartiments biologiques.

Quelques recommandations et conclusions partielles sont données.

Analyse validée par l'ensemble des membres du conseil scientifique Adour-Garonne, après rapports du groupe « contaminants et risques »

Après avoir entendu le porteur de l'étude et après avoir échangé avec le porteur, entre les experts du CS et l'ensemble de ses membres (cf. ci-dessus), il ressort l'avis global suivant, validé en CS du 19 mars 2015 :

- Le CS reconnaît la difficulté du sujet d'étude compte tenu de l'immensité du champ.
- Le choix de focaliser l'étude sur les nanoparticules métalliques, NPMe (de type Ag, CeO₂, ZnO, TiO₂), est judicieux et en accord avec la commande initiale. Il est dommage que cette étude n'ait pas été étendue aux autres nanoparticules de questionnement majeur (organiques, carbone).
- Quelques définitions, vocabulaires utilisés et conclusions sont erronés.
- Des manques importants sont à signaler, notamment dans le domaine de l'analyse des nanoparticules (caractérisation et quantification), des références bibliographiques récentes et des données existantes en France.
- Un tableau récapitulatif des données bibliographiques internationales que le chargé d'étude a pu consulter fait apparaître des concentrations estimées dans des écarts de 1 ng/L à 1 mg/L, pour plusieurs types de colonne d'eau douce de surface et parfois de plusieurs dizaines de mg/L pour les eaux marines. Ce tableau mériterait toutefois d'être plus documenté.
- Les voies de contamination des NPMe sont décrites en s'appuyant essentiellement sur une publication récente et en développant le cas intéressant des bivalves comme modèle sentinelle pour la « nano-écotoxicologie ».
- Le risque de contamination chez l'homme par ingestion et contact cutané (deux principales voies d'exposition) est rapidement abordé du à la faible exploration actuelle de la toxicologie dans ce domaine.
- Le rapport met en évidence des points importants (qui sont repris en conclusion de cet avis), mais les grands challenges en termes d'enjeux majeurs n'ont pas été assez mis en évidence, notamment dans une conclusion générale qui manque dans le rapport.

Remarques supplémentaires des 4 experts du conseil scientifique Adour-Garonne sur les manques et/ou erreurs du rapport

Sur les caractéristiques des nanoparticules

- Les termes ne sont pas toujours bien choisis : dans la classification des NP, les termes « naturelles », « anthropiques » et « manufacturées » auraient du être préférés à « naturelles », « accessoires ou accidentelles » et « fabriquées ».
- Les NP ne sont pas des molécules mais des dispersions colloïdales stables en milieu aqueux.
- La nature et le type de NP (métalliques, organiques, carbone) a peu d'influence sur leur surface spécifique contrairement leur structure (tube, sphère ...) qui est prépondérante.
- Les NP sont définies par leur cœur bien que leur comportement dans l'environnement est tributaire de leur surface. Aussi suivant leur état d'altération leur comportement peut changer.

Sur les principales sources, les modes d'émission et de transport vers les systèmes aquatiques

- Il manque les quantum dots qui représentent des enjeux considérables (biologie, médecine, informatique, énergie renouvelable, ...)
- La difficulté de les tracer dans l'environnement à cause de leur transformation (par exemple dé-nucléation et agrégation) et le manque d'études sur les conditions environnementales favorables à leur transformations ne sont pas assez précisés.
- Les outils analytiques disponibles, en cours de développement ou à développer ne sont absolument pas précisés et aucune donnée bibliographique n'est présentée sur cet aspect

Sur le comportement des NP dans les systèmes aquatiques, le potentiel de contamination et la biodisponibilité

- Il manque des données cinétiques et globalement il n'y a pas assez de références.

Conclusion et avis global

Le rapport met en évidence des points importants, en particulier :

- L'amélioration nécessaire du dispositif de déclaration afin d'identifier les nanomatériaux manufacturés, produits, distribués et importés au niveau national.
- Le besoin primordial de développement de méthodes d'observation permettant d'identifier, quantifier et caractériser les nanoparticules dans des matrices complexes des systèmes naturels.
- Le manque d'études sur les modes de transport des nanoparticules à travers les bassins versants et les conséquences à long terme sur l'environnement, notamment leurs impacts sur le système aquatique, alors que la fabrication des NPMe va considérablement augmenter dans les années à venir.
- La capacité des nanoparticules à pénétrer dans les organismes et se distribuer dans les différents organes avec une durée de rétention encore mal connue et des effets toxiques qui doivent être confirmés.

Le contenu du rapport apparaît toutefois insuffisamment documenté au regard du cahier des charges et du montant de l'étude. On peut lui reprocher principalement :

- un manque de données analytiques mesurées ou estimées, notamment au niveau national ;
- l'absence de synthèse et d'analyse critique sur les méthodes analytiques de caractérisation et de quantification ;
- de ne pas avoir abordé le cas des autres nanoparticules que les NPMe, mais dont l'objet n'apparaissait pas dans la commande.

Table des matières

1.	Caractéristiques structurales des nanoparticules métalliques (NPMe).....	1
2.	Principales sources en lien avec les applications techniques et usages.....	3
3.	Les modes d'émission et de transport vers les systèmes aquatiques.....	5
4.	Le comportement des nanoparticules métalliques dans les gradients biogéochimiques.....	8
	4.1) Dissolution	8
	4.2) Agrégation	8
	4.3) La taille	9
5.	Le potentiel de contamination des compartiments biologiques.....	10
	5.1) Risque de contamination chez les organismes marins.....	10
	5.2) Risque de contamination chez l'Homme.....	14
6.	Bibliographie.....	16

1. Caractéristiques structurales des nanoparticules métalliques (NPMé).

Les NP, qu'elles soient d'origine naturelle ou artificielle, sont généralement définies comme de la matière particulaire avec au moins une dimension inférieure à 100 nm. Cette définition en fait un sous-ensemble des particules colloïdales (Christian et al., 2008).

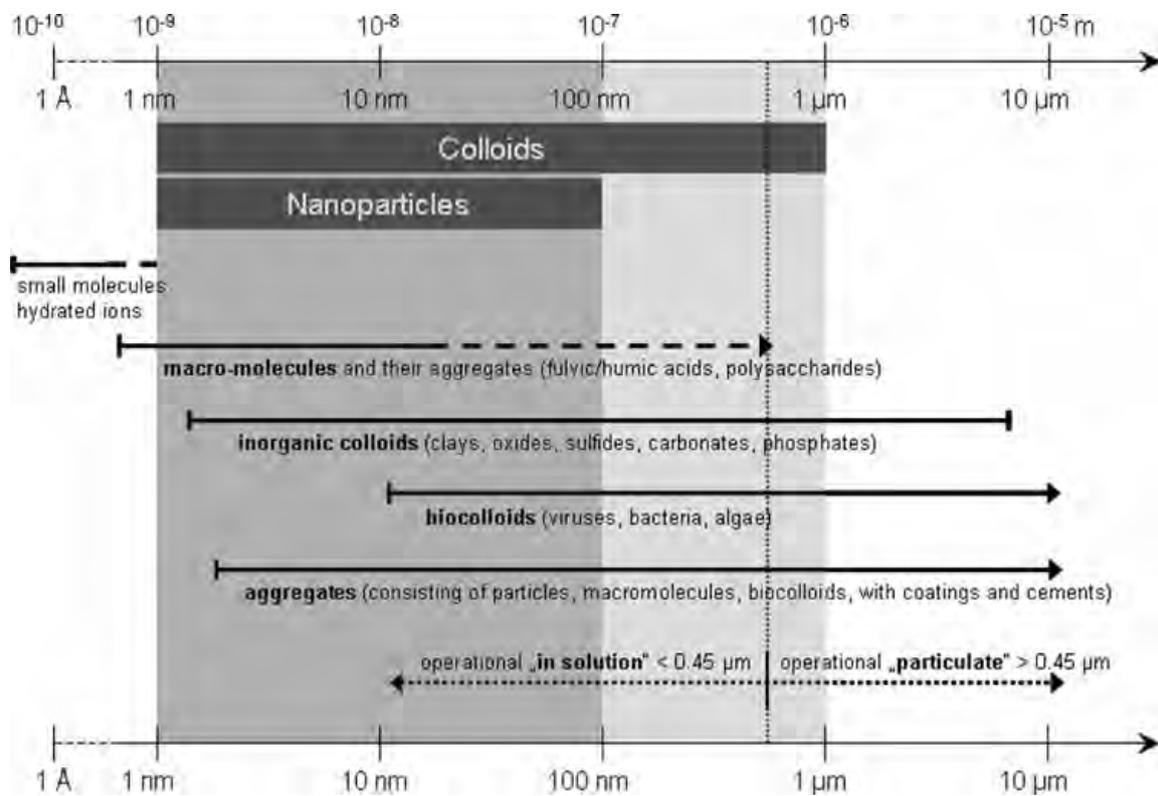


Fig. 1 : Ordres de grandeurs caractérisant les différents types de colloïdes et NP (différenciation basée sur une filtration à 0,45 µm) (Christian et al., 2008).

Les NP sont réparties en 3 catégories d'après leur origine ; i) les NP naturelles qui sont issues de procédés naturels (e.g. érosion des sols, lessivage de particules en suspension), ii) les NP « accessoires » ou « accidentelles » qui peuvent être soit des sous-

produits de fabrication, soit de processus mécaniques (e.g. broyage, fraisage, soudage, combustion, usure de produits techniques, etc.), et iii) les NP fabriquées qui ont été conçues avec des propriétés ou une composition spécifiques (thèse Alba JIMENO ROMERO, 2014).

Si les NP sont souvent considérées comme des molécules simples, elles présentent pourtant une structure complexe. Leur comportement découle généralement de leurs différents composants et/ou de leurs structures. Une NP aura un rapport surface/volume extrêmement important, ce qui lui confère en partie ses propriétés spécifiques et particulièrement recherchées. Cette grande surface spécifique représente une propriété caractéristique pour chaque type de NP. Dans de nombreux cas, la composition exacte de la surface d'une NP est intimement liée à son application finale (Christian et al., 2008).

Les NP peuvent être structurées en deux ou trois couches ; i) la surface qui peut être fonctionnalisée par une couche d'ions métalliques, de petites molécules ou de polymères, ii) une enveloppe externe ou capsule qui peut être intentionnellement ajoutée, et iii) un noyau. Les NP ne sont souvent caractérisées que par leurs noyaux car c'est de cette partie que résultent des propriétés clés (taille, forme) pour la plupart des applications des NP (Christian et al., 2008). Les propriétés du noyau sont complétées par les groupes fonctionnalisés à la surface des NP qui déterminent leurs interactions physico-chimiques avec l'entourage des NP. Les capsules servent généralement à optimiser (retarder) l'action des NP (e.g. médicaments).

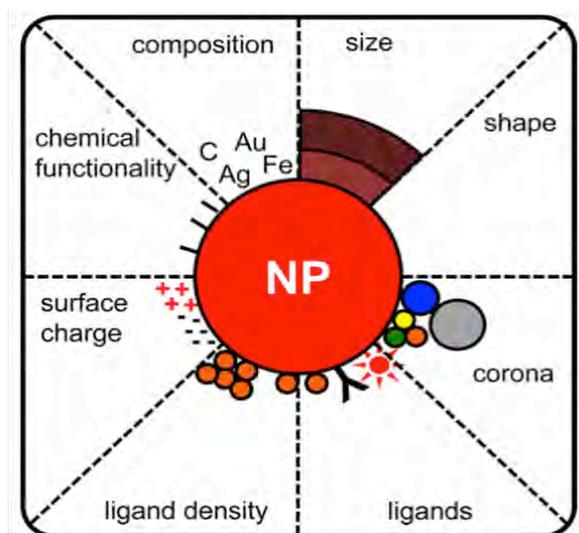


Fig. 2 : Structure d'une NPMe (Rauch et al., 2013)

1. Principales sources en lien avec les applications techniques et usages.

La banque de données Woodrow Wilson Database a listé (en mai 2010) 1015 produits de la grande distribution contenant des NP (Fabrega et al., 2011). Plusieurs propriétés physico-chimiques des NP telles qu'une grande conductivité thermique et électrique, leur stabilité chimique, leur activité catalytique et leur comportement optique non linéaire, leur donnent une valeur potentielle d'application pour les domaines de l'imprimerie, de la micro-électronique (Perelaer et al., 2009 ; Tay and Edirisighe, 2002) et de l'imagerie médicale (Jain et al., 2008). Selon la Commission européenne, le marché des nanotechnologies est estimé à 700 milliards d'euros en 2008. Il devrait atteindre 1 000 milliards d'euros par an en 2010 – 2015, et en matière d'emploi concerner 2 millions de personnes dans le monde (INERIS, 2014).

Cas particulier des NP d'argent (Ag) : leur activité bactéricide ainsi que leur faible coût de fabrication a rendu leur utilisation extrêmement populaire dans la fabrication de divers types de matériaux de consommation tels que les plastiques, les savons et les textiles (Frattini et al., 2005).

L'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economique) a indiqué 4 NP métalliques et oxi-métalliques (Me(O)NP) comme présentant un intérêt élevé dû à leurs propriétés inhérentes, leur utilisation répandue et leur importance commerciale ; il s'agit de NP incluant dans leur composition un des éléments suivants : l'oxide de cerium (CeO₂), l'argent (Ag), l'oxide de zinc (ZnO), et le dioxyde de titane (TiO₂) (Baker et al., 2014).

- CeO₂ : est utilisé comme additif dans les carburants Diesel afin de diminuer les émissions particulaires (Park et al., 2008), dans des polisseurs de verre, dans les purificateurs de mischmétal (un alliage de terres-rares), ainsi que dans les revêtements résistants à la chaleur (EPA, 2009 ; Baker et al., 2014).

- Ag : Les AgNP sont utilisées pour leurs propriétés antibactériennes (Jeong et al., 2005 ; Lee et al., 2005 ; Shrivastava et al., 2007). Elles sont présentes dans environ 200 produits de consommation incluant les déodorants et les chaussettes (Luoma, 2008), et sont particulièrement efficaces contre la bactérie *E.coli* (McQuillan et al., 2012 ; Baker et al., 2014).

- ZnO : Les NP contenant ZnO sont présents dans certaines peintures, cosmétiques, nourritures animales et fertilisants.

- TiO₂ : Les NP à TiO₂ sont communément employées dans les crèmes solaires où les NP agissent contre la dégradation cellulaire en bloquant les rayons UV (JRC-IRMM, 2011 ; Baker et al., 2014).

Depuis le 1^{er} janvier 2013, la déclaration des usages des substances nanoparticulaires ainsi que des quantités produites, importées et exportées sur le territoire français est devenue obligatoire (articles L. 523-1 à L. 523-8 du Code de l'environnement). Le tableau 1 présente les plus grandes catégories de NPMe manufacturées sur le territoire français, classées par ordre décroissant de quantité produite annuellement (en kg). Cependant, certains nanomatériaux manufacturés ne font pas encore l'objet d'une obligation de déclaration, tels que le nano-argent par exemple. **Une amélioration du dispositif de déclaration semble nécessaire afin d'identifier les nanomatériaux manufacturés produits distribués et importés au niveau national.**

Tableau 1 : Catégories de NPMe produites et/ou importées en plus grandes quantités (plus de 100 tonnes) sur le territoire français (modifié d'après le rapport d'expertise ANSES, 2014)

Masse produite et/ou importée (en kg)	Nom chimique
14 321 436	Dioxyde de titane
2 193 565	Oxyde d'aluminium
538 473	Jaune d'oxyde magnétique de fer
492 000	Acide silicique, sel d'aluminium et de sodium
287 695	Oxyde de zinc
173 641	Trioxyde de di-fer
150 975	Acide silicique, sel d'aluminium, de magnésium et de sodium
136 500	Hydroxyde d'aluminium
107 796	Dioxyde de cérium

Les NP sont également présentes naturellement dans l'environnement, avec pour principales sources les cendres (volcaniques, feux de forêt), les poussières de désert, les aérosols, la matière organique colloïdale dans les systèmes aquatiques et les sols, et les particules oxi-métalliques. (Baker et al., 2014)

2. Les modes d'émission et de transport vers les systèmes aquatiques.

L'entrée des NP dans le système aquatique se fait par voie directe depuis les sources (à travers les dépôts aériens, les effluents, les déversements et les ruissellements) ou indirecte (à travers les réseaux de rivières ; Baker et al., 2014) en passant par des étapes intermédiaires (e.g. pluies chargées en iodures de Ag liées au cloud-seeding, rejets des stations d'épurations ; Lancelot et al., 2011 ; Deycard et al., sous presse). Leur comportement sera soit associé à la celui de la fraction dissoute sous leur forme libre (donc colloïdale), soit à celui de la fraction particulaire après floculation ou adsorption. La réactivité des NP dans les gradients environnementaux (e.g. salinité, redox, lumière, etc.) est probablement grande, dû à leur petite taille et le fait qu'elles sont produites pour interagir avec leur milieu ambiant. Toutefois, cette réactivité environnementale et les effets en résultant restent largement inconnus de part le manque d'observations. Seulement 6-8% des publications scientifiques sur les NP fabriqués s'adressent à leur potentiel impact environnemental (ANSES, 2014). **Il est primordial de développer des méthodes d'observation permettant de les identifier, quantifier et caractériser dans des matrices complexes des systèmes naturels afin de décrire leurs comportements et leurs conséquences environnementales.**

Cas particulier de l'argent (Ag) : exemple du système fluvio-estuarien Girondin.

En ce qui concerne le bassin versant de l'estuaire de la Gironde, une attention toute particulière est donnée au suivi des concentrations en Ag, considéré comme contaminant émergent dû à son utilisation massive en nano-technologie. Les capacités biocides et antimicrobiennes de ce métal expliquent son utilisation croissante depuis une décennie sous sa forme ionique et nanoparticulaire. Les enregistrements historiques de Ag dans les huîtres girondines (RNO/ROCCH) indiquent que la pression

actuelle en Ag équivaut les pressions historiques pendant l'activité de l'industrie métallurgique dans le bassin versant (avant 1986 ; Vieille Montagne Viviez) ou le maximum d'utilisation de photographie argentique (années 1990 ; Lanceleur et al., 2011). Les effets de Ag sont intensifiés sous sa forme nanoparticulaire, ce qui contribue fortement à son succès croissant. La récente hausse des concentrations en Ag observée dans les huîtres sauvages de l'estuaire de la Gironde (Lanceleur et al., 2011) pourrait donc être attribuée à des sources multiples. La contribution de ces éventuelles sources est cependant encore mal connue : érosion des sols agricoles, ensemencement des nuages (iodure d'argent) utilisé dans le cadre de la viticulture et l'arboriculture, rejets des eaux usées des stations d'épurations urbaines, etc. (Fig. 3). Il est donc essentiel de poursuivre les recherches en bio-géochimie et le suivi des concentrations environnementales en Ag afin d'en déterminer/hiérarchiser les sources et de caractériser son comportement géochimique. Ces travaux permettront de préciser les estimations sur les risques environnementaux et les impacts socio-économiques associés aux rejets de Ag et nano-Ag dans l'environnement. (Salles et al., 2013)

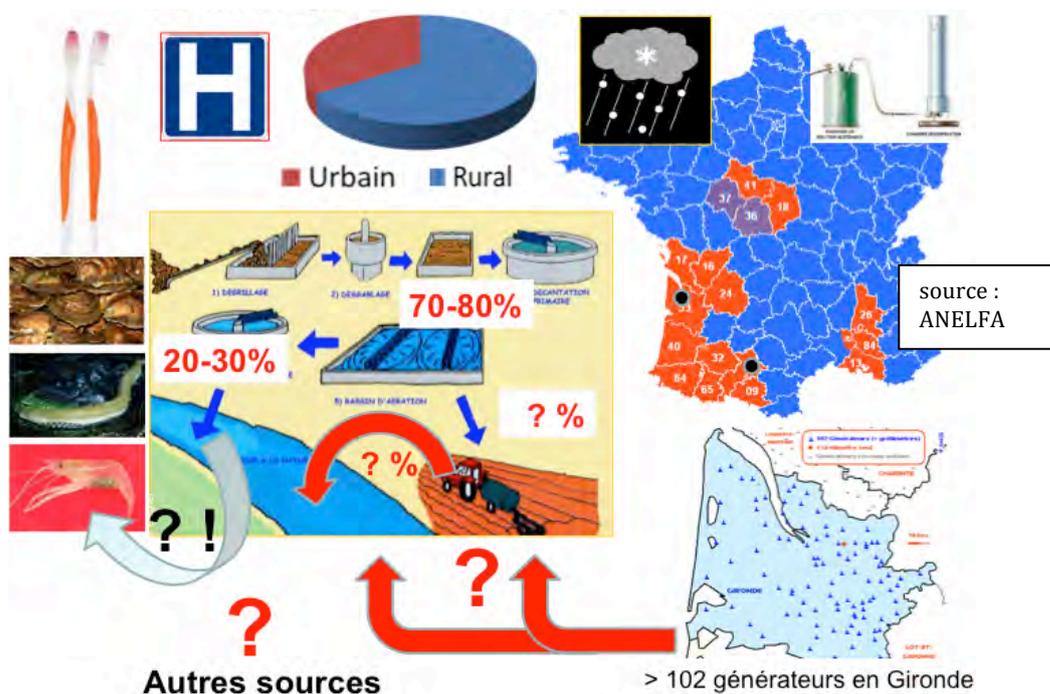


Fig. 3 : Sources et voies de transferts potentielles en nano-Ag pour l'environnement aquatique du Sud-Ouest de la France. (Schäfer et al., 2014)

Les modèles numériques montrent des estimations de concentrations très faibles pour les NPMe dans l'environnement aquatique, allant du $\mu\text{g/L}$ au ng/L (Tableau 2). Cependant un manque de données réelles persiste, ceci est dû à i) l'incapacité de séparation/d'isolation des NPMe dans le milieu naturels, ainsi qu'à ii) l'augmentation de l'utilisation des NPMe dans diverses applications et l'accélération de leur introduction dans le milieu aquatique (Liu et al., 2014).

Tableau 2 : Concentration estimées par différents modèles pour plusieurs types de NP dans la colonne d'eau (en $\mu\text{g/L}$) (thèse Alba JIMENO ROMERO, 2014).

Medium	Predicted Concentration	Reference
Ag		
Surface waters	0.03 – 0.08	Mueller & Nowack, 2008
Surface waters (Europe)	0.764 ng/L	Gottschalk et al., 2009
Surface waters	0.218 - 0.295	O'Brien & Cummins, 2010
Aquatic environments (Johannesburg, South Africa)	0.00280 – 0.619	Musee, 2010
Surface waters	0.25 – 1.1	Johnson et al., 2011
Surface waters	<0.03– 0.32	Batley et al., 2013
Au		
Marine waters	0.14	Tiede et al., 2009
TiO₂		
Marine waters (surface)	24.5	Boxall et al., 2007
Marine water	0.7 – 16	Mueller & Nowack, 2008
Surface waters	0.002 - 0.021	Gottschalk et al., 2009
Surface waters	1.333 – 1.448	O'Brien & Cummins, 2010
Aquatic environments (Johannesburg, South Africa)	0.0027 - 0.270	Musee, 2010
UK rivers	0.25 - 0.5	Johnson et al., 2011
ZnO		
Surface waters	0.001 – 0.013	Gottschalk et al., 2009

Conclusion : si les études sur le comportement NPMe se multiplient ces dernières années, leur mode de transport à travers les bassins versants reste néanmoins peu étudié. En outre, seul 6% de la littérature existante actuellement concerne des travaux étudiant les impacts environnementaux des NP, le reste étant principalement dédié à leurs méthodes de fabrications et aux applications industrielles.

3. Le comportement des nanoparticules métalliques dans les gradients biogéochimiques des systèmes aquatiques.

Les propriétés physico-chimiques des NP diffèrent entre l'eau douce et l'eau salée, leur réactivité et les transformations résultantes affectent ainsi leur toxicité et leur biodisponibilité pour les organismes aquatiques (Baker et al., 2014).

4.1) La dissolution.

Les NPMe montrent une grande diversité de leurs solubilité et donc de la libération des ions métalliques dans le compartiment aquatique. Les CeO₂-NP sont pratiquement insolubles (Zhang et al., 2012), les NP à base de Cu fournissent des ions Cu²⁺ (Bielmyer et al., 2006), et l'argent de surface des Ag-NP se mobilise sous forme de Ag⁺, forme la plus toxique pour les organismes aquatiques (Barriada et al., 2007; Batley et al., 2013). L'importance de la dissolution est fonction de nombreux facteurs tels que la taille des particules, de leur revêtement et du support. La forme des particules a également un effet sur le taux de dissolution, et est généralement reliée à sa surface (Baker et al., 2014).

4.2) L'agrégation.

Les NPMe tendent à s'agréger dans le milieu aquatique. Cette agrégation est dépendante de la charge de surface, de la forme et de la taille des particules, ainsi que du pH du milieu. L'augmentation de la salinité en milieu marin, et par conséquent de la force ionique, crée un environnement propice à l'agrégation (Batley et al., 2013). L'agrégation est également positivement corrélée avec la concentration du milieu en particules, ceci s'expliquant probablement par une plus grande quantité de particules disponibles pour interagir (Fairbairn et al., 2011 ; Miller et al., 2010). Ce phénomène d'agrégation réduit la surface spécifique des NP diminuant par conséquent leur solubilité (surtout dans les cas de fortes concentrations en particules). Certains agents de blocage (citrate, polyvinylpyrrolidone (PVP), dodecylamine, ...) sont utilisés afin de changer la charge des particules et de prévenir leur agrégation. Ces agents de blocage

ont également pour effet de diminuer la dissolution des NP ; il y a donc une différence de comportement entre les particules « bloquées » et « non-bloquées » (Baker et al., 2014).

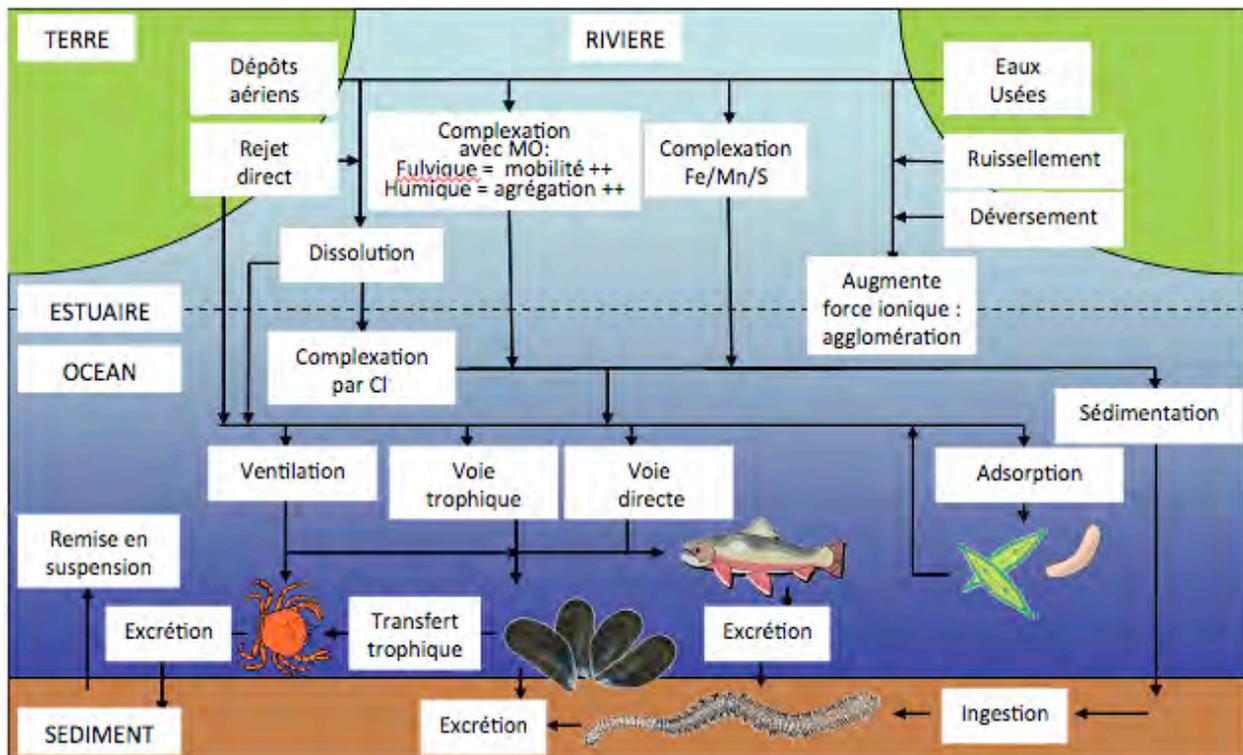


Fig. 5: Récapitulatif des sources et comportements des NP dans l'environnement aquatique, ainsi que de voies potentielles d'absorption par les organismes du milieu. (modifié d'après Baker et al., 2014)

4.3) Effet de la taille sur les propriétés et la biodisponibilité des NP dans le milieu naturel.

La taille des NP détermine la voie de pénétration des NP dans les organismes, tissus ou cellules. Les plus petites peuvent être intégrées dans des cellules par pinocytose, les plus grandes par phagocytose, et certaines peuvent également se créer un passage en fabriquant leurs propres canaux membranaires (Wang et al., 2012). La taille affecte le taux de dissolution, et les tentatives de comptabilisation et de mesure de la taille des NP sont souvent biaisées par leur aggrégation. Il est peu probable que les NP gardent leur taille nanométrique en présence d'organismes marins. Elles seront agrégées sous l'effet d'une salinité croissante, et présenteront ainsi une surface spécifique réduite (Baker et al., 2014).

4. Le potentiel de contamination des compartiments biologiques résultant de la dispersion des nanoparticules dans l'environnement.

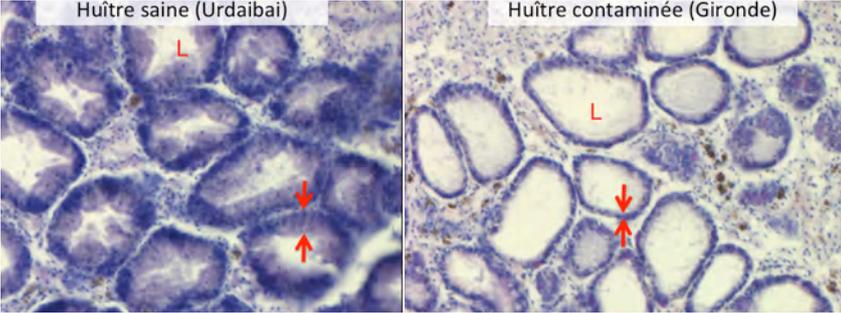
5.1) Risque de contamination chez les organismes aquatiques :

La toxicologie des NP dans les systèmes aquatiques est complexe. Dans un premier lieu, la taille des particules, leur forme, leur chimie ainsi que les agents de blocage jouent un rôle majeur dans la stabilité et donc la biodisponibilité des NP dans le milieu. Les 4 voies majeures de contamination des organismes aquatiques sont : i) l'adsorption à la surface (cellule, organe, corps), ii) l'internalisation cellulaire, iii) la dissolution des NP vers leurs formes ioniques, iv) les effets nano-mécaniques (Baker et al., 2014).

Les milieux aquatiques continentaux et marins représentent une vaste ressource rassemblant d'innombrables réseaux trophiques. Les données actuelles indiquent que les NPMe peuvent avoir des effets indésirables sur des organismes clés comme par exemple les producteurs primaires, dommages qui pourraient avoir des conséquences de grande envergure non seulement sur la production de nutriments et la disponibilité de nourriture dans les réseaux trophiques, mais également sur les cycles du carbone et de la silice (Baker et al., 2014). Bien que la mortalité n'ait été enregistrée qu'à des concentrations d'exposition excédant les valeurs environnementales, un stress oxydatif a été observé à des niveaux réglementaires. La majeure partie des organismes marins présente un microscopique stade planctonique dans leur développement, et c'est à ce stade que les effets délétères des NP peuvent impacter le plus ces populations (Baker et al., 2014). La capacité d'agrégation des NPMe les rend directement disponibles pour la macrofaune, bien que leur propriété d'adsorption permette aux micro-organismes de devenir pour leur part des vecteurs de contamination pour les organismes plus grands (Baker et al., 2014). Les études de mésocosmes simples suggèrent que les bivalves et biofilms seraient les accumulateurs majeurs de NP. Des études québécoises ont cependant montré que certains métaux sont moins toxiques sous forme nanoparticulaire que sous leur forme ionique (Fournier et al. 2014).

Tableau 3 : Descriptif des voies de contamination des organismes par les NP ainsi que les éventuels effets observés: (modifié d'après Baker et al., 2014)

Organisme	Voie d'absorption et effets
Bactéries	<p>Les bactéries Gram⁺ sont plus susceptibles d'être atteintes que les Gram⁻.</p> <p>Les NP peuvent affecter leur composition mais pas leur fonction, mais leur accumulation peut les rendre disponibles pour les prédateurs herbivores.</p>
Algues	<p>Les NP peuvent être absorbées par la surface cellulaire. Les ions issus de la dissolution des NP peuvent interférer avec l'absorption des nutriments et, à terme, limiter la croissance de l'organisme.</p>
Arthropodes	<p>L'adsorption des NP sur les nauplii entraîne la limitation de leur mouvement. La forme dissoute Zn²⁺ est la principale forme pouvant entraîner une toxicité sub-létale.</p>
Annélides	<p>Ingestion de NP issues de sédiments par les organismes limivores, et de NP en suspension dans la colonne d'eau par les organismes filtreurs. Un effet sub-létal a également été observé avec des NP insolubles.</p>
Bivalves	<p>Les nanoparticules sont ingérées par filtration, au niveau des branchies (1^{er} site de contact). Une partie reste piégée dans les branchies, une autre partie est transférée vers le système digestif, et une majorité est évacuée sous forme de pseudofaeces. Un stress oxydatif a été noté avec des NP insolubles également.</p>

	 <p>Fig 4 : Exemple d'atteinte toxicologique : Coupe transversale de masse viscérale d'huître (<i>Crassostrea gigas</i>) saine (image de gauche) et contaminée en Ag (image de droite). L'organisme exposé à un environnement contaminé (pollution aquatique polymétallique) présente une diminution du nombre de tubules digestifs, un affinement de la paroi des tubules (donc agrandissement de la lumière notée L), ainsi que l'apparition de taches brunes. Cela est susceptible de remettre en cause l'efficacité d'absorption des nutriments pouvant éventuellement avoir un impact sur la capacité de reproduction de l'organisme (Schäfer et al., données non publiées). Une dégradation similaire des tissus digestifs a été observée en mésocosme après exposition d'huîtres à des isotopes de Ag à des niveaux proche de niveaux environnementaux (thèse A. Rementeria, en cours).</p>
Gastéropodes	L'adsorption des NP sur l'organisme peut causer un stress in situ. Les gastéropodes ne sont pas reconnus comme accumulateurs significatifs de NP dans la littérature actuelle.
Echinodermes	Le système immunitaire est régulé à la baisse chez les organismes adultes; la dissolution des ions peut causer une mortalité larvaire en cas d'exposition chronique.
Poissons sténohalins	Les NP peuvent se loger dans le mucus des branchies et s'y dissoudre. Les NP s'accumulent également dans l'intestin après ingestion d'eau par le poisson. La production de carbonate peut biotransformer et libérer les ions dissous.
Poissons euryhalins et diadromes	La dissolution des ions interfère avec les changements dans les fonctions branchiales dans les situations de migration entre eau douce et eau marine.

- Cas particulier : Les bivalves comme modèle d'espèce sentinelle pour la nano-écotoxicologie :

Utilisés pour de nombreux programmes de surveillance de la qualité des environnements aquatiques, les bivalves sont mondialement connus et reconnus comme étant des espèces bio-indicatrices valables pour les suivis de pollutions. Par ailleurs, l'observation de leurs réponses biologiques face aux variations de certains paramètres environnementaux apporte des informations complémentaires non négligeables à la compréhension du comportement de nombreux polluants organiques et inorganiques (bio-accumulation, impacts toxicologiques, transferts trophiques, etc. ; Dagnino et al., 2007 ; Moore et al., 2006). Sachant que les compartiments aquatique et sédimentaire sont des réservoirs potentiels pour les résidus nanoparticulaires, spécialement dans les environnements côtiers et estuariens, les bivalves peuvent représenter un modèle incontournable pour l'étude toxicologique des NP d'après la particularité des mécanismes mis en place pour leur stratégie d'alimentation (Moore et al., 2006). Ces organismes ont en effet développé des processus complexes pour l'internalisation cellulaire des particules de taille micro- et nanométriques : respectivement la phagocytose et l'endocytose. Par ailleurs, les bivalves sont des organismes capables de filtrer de grands volumes d'eau, et d'incorporer les NP aussi bien sous forme libre que d'agglomérats de composition homogène ou hétérogène (Ward and Kach, 2009 ; Canesi et al., 2012). Il est donc important de prendre en considération les nombreux biomarqueurs que représentent les réactions des différentes espèces de bivalves, car ils constituent un outil intéressant pour l'observation des possibles effets délétères causés par l'exposition aux NPMe (Thèse Alba Jimeno Romero, 2014).

Conclusion : La fabrication et donc le rejet des NPMe vont sévèrement augmenter dans les années à venir. Une compréhension complète des conséquences à long terme de la présence de ces NPMe dans l'environnement est donc nécessaire, ainsi qu'un relevé des effets et des rejets de ces matériaux sur les espèces potentiellement bio-indicatrices pour mieux documenter leurs impacts sur le système aquatique et leurs modes de transferts trophiques (Baker et al., 2014).

5.2) Risque de contamination chez l'Homme :

La libération de NP dans le compartiment aquatique place l'ingestion et le contact cutané comme les deux voies d'exposition principales envisagées pour l'Homme. Ce sont cependant les deux voies les moins explorées en toxicologie à l'heure actuelle (ANSES, 2011 et 2014). Des études de bio-cinétique ont montré une variation de la persistance des NP dans l'organisme en fonction des propriétés physico-chimiques des NP, qui déterminent le passage des barrières physiologiques (Rauch et al., 2013).

La composition de la corona (couronne de protéines et de lipides) qui enveloppe parfois les NP pourrait jouer un rôle dans le franchissement des barrières, dans le contrôle de l'absorption cellulaire ou encore l'exocytose (externalisation de NP ; Bashir et al., 2012 ; Cedervall et al., 2007 ; Lundqvist et al., 2008 ; Monopoli et al., 2012 ; Shrivastava et al., 2012 ; Zhang et al., 2011).

Les NP peuvent être absorbées par l'organisme et migrer vers d'autres organes, induisant un risque systémique potentiel. Le passage des NP au travers certaines barrières biologiques a été vérifié (barrière alvéolo-capillaire par exemple), tandis que d'autres doivent être confirmés (passage du TiO_2 à travers les barrières placentaire (Oberdörster et al., 2005), hémato-testiculaires (Yoshida et al., 2010) et hémato-encéphaliques. Puisque les caractéristiques physico-chimiques des NP déterminent leur capacité à franchir ces barrières, et leur persistance dans les organismes, ces caractéristiques influencent également la capacité des NP à interagir avec leur environnement direct, i.e. leurs effets toxiques potentiels.

- Génotoxicité : Des effets génotoxiques directs ou indirects de plusieurs NP métalliques ont été mis en évidence in vitro (ZnO) et in vivo (TiO_2 ; Trouiller et al., 2009). Bien que peu d'études soient à présent disponibles sur le sujet, des effets cancérogènes ont également été mis en évidence chez l'animal exposé à des NP de cobalt (Co) et de nickel (Ni).

- Système immunitaire : Les caractéristiques structurales et les propriétés physico-chimiques uniques des NP peuvent potentiellement leur permettre d'interagir spécifiquement avec le système immunitaire et d'être capables de modifier les réponses immunes (Affsaps, 2011). Des effets adjuvants, une réaction inflammatoire ou au

contraire des phénomènes d'immunosuppression ont été observés avec certaines NP. (ANSES, 2014)

- Systeme nerveux : Les résultats existants suggèrent que l'exposition aux NP (in utero et post natale) entraînerait des changements dans la plasticité synaptique, l'expression des gènes et le neurocomportement (Powers et al., 2013).

Conclusion : D'après les études existantes sur les NPMe il ressort que celles-ci sont capables de pénétrer dans l'organisme et d'être redistribuées dans les différents organes avec une durée de rétention plus au moins longue. Si des effets toxiques ont été démontrés par des tests d'exposition, d'autres effets probables doivent encore être confirmés par des études futures.

5. Bibliographie

- Afssaps, (2011). Etat des connaissances relatif aux nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de zinc dans les produits cosmétiques en termes de pénétration cutanée, de génotoxicité et de cancérogénèse. Afssaps, Saisine 2008 BCT0001.
- ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (2014). Rapport d'expertise collective: "Evaluation des risques liés aux nanomatériaux, enjeux et mise à jour des connaissances".
- Baker, T. J., Tyler, C. R., & Galloway, T. S. (2014). Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms. *Env Pol*, 186 : 257-271.
- Barriada, J.L., Tappin, A.D., Evans, H.E., Achterberg, E.P. (2007). Dissolved silver measurements in seawater. *Trends in Anal. Chem.* 26: 809-817.
- Bashir, M M, Verma, NK, *et al.* (2012). Citrullination of proteins: a common post-translational modification pathway induced by different nanoparticles in vitro and in vivo. *Nanomedicine* 7(8), 1181-1195.
- Batley, G.E., Kirby, J.K., McLaughlin, M.J. (2013). Fate and risks of nanomaterials in aquatic and terrestrial environments. *Acc Chem Res* 46: 854-862.
- Bielmyer, G.K., Grosell, M., Brix, K.V. (2006). Toxicity of silver, zinc, copper, and nickel to the copepod *Acartia tonsa* exposed via a phytoplankton diet. *Environ Sci Technol* 40: 2063-2068.
- Boxall, A.B.A., Chaudhry, Q., Jone, A., Jefferson, B., Watts, C.D. (2007). Current and future predicted environmental exposure to engineered nanoparticles. Central Science Laboratory, Sand Hutton, UK.
- Canesi, L., Ciacci, C., Fabbri R., Marcomini, A., Pojana, G., Gallo, G. (2012). Bivalve molluscs as a unique target group for nanoparticle toxicity. *Mar Env Res* 76: 16-21.
- Christian P, Von der Kammer F, Baalousha M, Hofmann Th. (2008) Nanoparticles: structure, properties, preparation and behaviour in environmental media. *Ecotoxicology*, 17:326- 343
- Cedervall, T., Lynch, I., Lindman, S., Berggård, T., Thulin, E., Nilsson, H., Dawson, K.A., Linse, S. (2007). Understanding the nanoparticle-protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 2050-2055.
- Dagnino, A, Allen, JI, Moore, M, Broeg, K, Canesi, L, Viarengo, A. (2007). Integration of biomarker data into an organism health index: development of an expert 38 system and its validation with field and laboratory data in mussels. *Biomarkers* 12: 155-172.
- Deycard, V.N., Schäfer, J., Blanc, G., Coynel, A., Petit, J.C.J., Lanceleur, L., Dutruch, L., Bossy, C., Ventura, A. (2014). Contributions and potential impacts of seven priority substances (As, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, and Zn) to a major European Estuary (Gironde Estuary, France) from urban wastewater. *Mar Chem*, sous presse.
- EPA (2009). Toxicological Review of Cerium Oxide and Cerium Compunds. EPA/635/ R-08/002F.
- Fabrega, J., Tantra, R., Amer, A., Stolpe, B., Tomkins, J., Fry, T., Lead, J.R., Tyler, C.R., Galloway, T.S., 2011. Sequestration of zinc from zinc oxide nanoparticles and life cycle effects in the sediment dweller amphipod *Corophium volutator*. *Environ. Sci. Technol.* 46, 1128-1135.
- Fairbairn, E.A., Keller, A.A., Madler, L., Zhou, D., Pokhrel, S., Cherr, G.N. (2011). Metal oxide nanomaterials in seawater: linking physicochemical characteristics with biological response in sea urchin development. *J Hazard Mater* 192: 1565-1571.
- Frattoni, A., Pellegri, N., Nicastro, D., Sanctis, O.D. (2005). Effect of amine groups in the synthesis of Ag nanoparticles using aminosilanes. *Mater Chem Phys* 94:148-52.
- Fournier M., Cote C., Brousseau P., Lemarchand K., Desbiens I., Barthes M., Osterheld K., Milour M., Pelletier E. (2014). Toxicité de nanoparticules subissant un transfert de l'eau douce vers des eaux estuarienne et marine. Colloque GAGILAU, session PERIMETRE, 14-16 mai 2014, Toulouse, France.
- Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B. (2009). Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions. *Environ Sci Technol* 43: 9216-9222.

- INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques) www.ineris.fr/centredoc/INERIS_plaquette.pdf. Dernière consultation en novembre 2014.
- Jain, P.K., Huang, X.H., El-Sayed, I.H., El-Sayed, M.A. (2008). Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. *Acc Chem Res* 41:1578–86.
- Jeong, S.H., Hwang, Y.H., Yi, S.C. (2005). Antibacterial properties of padded PP/PE nonwovens incorporating nano-sized silver colloids. *J Mat Sci* 40: 5413-5418
- Jimeno Romero, A. (2014). Cellular and subcellular distribution of metals and metal nanoparticles, biomarkers and histopathology in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to engineered metal nanoparticles (ZnO, CdS, Ag, Au, and TiO₂). PhD work, University of Basque Country, Spain.
- Johnson, A.C., Bowes, M.J., Crossley, A., Jarvie, H.P., Jurkschat, K., Juergens, M.D., Lawlor, A.J., Park, B., Rowland, P., Spurgeon, D., Svendsen, C., Thompson, I.P., Barnes, R.J., Williams, R.J., Xu, N. (2011). An assessment of the fate, behaviour and environmental risk associated with sunscreen TiO₂ nanoparticles in UK field scenarios. *Sci Tot Environ* 409: 2503-2510.
- JRC-IRMM (2011). Zinc Oxide NM-110, NM-111, NM-112, NM-113 Characterisation and Test Item Preparation NM-series of Representative Manufactured Nanomaterials.
- Lanceleur, L., Schäfer, J., Bossy, C., Coynel, A., Larrose, A., Masson, M., Blanc, G., (2011). Silver fluxes to the Gironde Estuary – 11 years (1999–2009) of monitoring at the watershed scale. *Appl Geochem* 26: 797–808.
- Lee, D., Cohen, R.E., Rubner, M.F. (2005). Antibacterial properties of Ag nanoparticle loaded multilayers and formation of magnetically directed antibacterial microparticles. *Langmuir* 21: 9651-9659.
- Liu, Y., Tourbin, M., Lachaize, S., & Guiraud, P. (2014). Nanoparticles in wastewaters: Hazards, fate and remediation. *Powder Technology*, 255: 149-156.
- Lundqvist, M., Stigler, J., Elia, G., Lynch, I., Cedervall, T., Dawson, K.A. (2008). Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 14265- 14270.
- Luoma, S.N. (2008). PEN 15-Silver Nanotechnologies and the Environment: Old Problems or New Challenges?
- McQuillan, J.S., Infante, H.G., Stokes, E., Shaw, A.M., (2012). Silver nanoparticle enhanced silver ion stress response in *Escherichia coli* K12. *Nanotoxicology* 6: 857-866.
- Miller, R.J., Lenihan, H.S., Muller, E.B., Tseng, N., Hanna, S.K., Keller, A.A. (2010). Impacts of metal oxide nanoparticles on marine phytoplankton. *Environ. Sci. Technol.* 44: 7329-7334.
- Monopoli, M.P., Åberg, C., Salvati, A., Dawson, K.A. (2012). Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. *Nature Nanotechnology* 7: 779-786.
- Moore, M.N. (2006). Do nanoparticles present ecotoxicological risks for the health of the aquatic environment? *Environ Internat* 32: 967–976.
- Mueller, N.C., Nowack, B. (2008). Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environ Sci Technol*, 42: 4447–4453.
- Musee, N. (2010). Simulated environmental risk estimation of engineered nano- materials: a case of cosmetics in Johannesburg City. *Human Experiment Toxicol* 30: 1181-1195.
- Oberdörster, G., Maynard, A., *et al.* (2005). Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Particle Fibre Toxicol* 2.
- O'Brien, N.J., Cummins, E.J. (2010). A risk assessment framework for assessing metallic nanomaterials of environmental concern: aquatic exposure and behavior. *Risk Analysis* 31: 706-726.
- Park, B., Donaldson, K., Duffin, R., Tran, L., Kelly, F., Mudway, I., Morin, J.P., Guest, R., Jenkinson, P., Samaras, Z., Giannouli, M., Kouridis, H., Martin, P., (2008). Hazard and risk assessment of a nanoparticulate cerium oxide-based diesel fuel additive - a case study. *Inhal Toxicol* 20, 547-566.
- Perelaer, J., Hendriks, C.E., de Laat, A.W.M., Schubert, U.S. (2009). One-step inkjet printing of conductive silver tracks on polymer substrates. *Nanotechnology* 20.
- Powers, C.M., Bale, A.S., Kraft, A.D., Makris, S.L., Trecki, J., Cowden, J., Hotchkiss, A., Gillespie, P.A. (2013). Developmental neurotoxicity of engineered nanomaterials: identifying research needs to support human health risk assessment. *Toxicol Sci* 134: 225-242.

- Rauch, J., Kolch, W., Laurent, S., Mahmoudi, M. (2013). Big signals from small particles: regulation of cell signaling pathways by nanoparticles. *Chem Rev* 113: 3391-3406.
- Salle, D., Roumezi, A., Lanceleur, L., Schäfer, J., Petit, J.C., Blanc, G., Coynel, A., Chiffolleau, J-F., Auger, D. (2013). L'argent (Ag, nano-Ag) comme contaminant émergent dans l'estuaire de la Gironde: évaluations scientifiques et gouvernance des risques. *Environnement Risques et Santé* 12: 317-323.
- Schäfer, J., Blanc, G., Deycard, N., Lanceleur, L., Mikolaczyk, M., Dutruch, L., Petit, J.C.J., Bossy, C., Abdou, M., Pougnet, F., Cobelo-Garcia, A. (2014). Nanomatériaux – nouvelles applications, formes et contaminations émergentes. Conférence invitée, Conseil Scientifique de l'Agence de l'Eau Adour-Garonne, 11 juin 2014, Toulouse, France.
- Shrivastava, S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., Ramachandrarao, P., Dash, D., (2007). Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 18: 225103.
- Tay, B.Y. and Eirisinghe, M.J. (2002). Dispersion and stability of silver inks. *J Mater Sci*, 37:4653.
- Tiede, K., Tear, S.P., David, H., Boxall, A.B.A. (2009). Imaging of engineered nanoparticles and their aggregates under fully liquid conditions in environmental matrices. *Water Res*, 43: 3335–3343.
- Trouiller, B., Reliene, R., Westbrook, A., Solaimani, P., Schiestl, R.H. (2009) Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability in vivo in mice. *Cancer Res* 69: 8784-8789.
- Wang, T., Bai, J., Jiang, X., Nienhaus, G.U. (2012). Cellular uptake of nanoparticles by membrane penetration: a study combining confocal microscopy with FTIR spectroelectrochemistry. *ACS Nano* 6: 1251-1259.
- Ward, J.E., Kach, D.J. (2009). Marine aggregates facilitate ingestion of nanoparticles by suspension-feeding bivalves. *Mar Environ Res* 68: 137–142.
- Woodrow Wilson ICS (2009). Consumer products inventory Project on Emerging Nanotechnologies, a project of the Woodrow Wilson International Center for Scholars.
- Yoshida, S., Hiyoshi, K., Oshio, S., Takano, H., Takeda, K., Ichinose, T. (2010) Effects of fetal exposure to carbon nanoparticles on reproductive function in male offspring. *Fertility Sterility* 93: 1695-1699.
- Zhang, H., Ji, Z., Xia, T., Meng, H., Low-Kam, C., Liu, R., Pokhrel, S., Lin, S., Wang, X., Liao, Y.P., Wang, M., Li, L., Rallo, R., Damoiseaux, R., Telesca, D., Madler, L., Cohen, Y., Zink, J.I., Nel, A.E., 2012. Use of metal oxide nanoparticle band gap to develop a predictive paradigm for oxidative stress and acute pulmonary inflammation. *ACS Nano* 6: 4349-4368.