

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

BIOACCESSIBILITÉ DE L'ARSENIC, DU CHROME ET DU CUIVRE DANS DES
SOLS PRÉLEVÉS À PROXIMITÉ DE POTEAUX TRAITÉS À L'ARSÉNIATE DE
CUIVRE CHROMATÉ (ACC)

PRISCILLA POUSCHAT

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)
DÉCEMBRE 2005



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 978-0-494-16839-4

Our file Notre référence

ISBN: 978-0-494-16839-4

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

BIOACCESSIBILITÉ DE L'ARSENIC, DU CHROME ET DU CUIVRE DANS DES
SOLS PRÉLEVÉS À PROXIMITÉ DE POTEAUX TRAITÉS À L'ARSÉNIATE DE
CUIVRE CHROMATÉ (ACC)

présenté par : POUSCHAT Priscilla

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Mme MILLETTE Louise, Ph.D., présidente

M. ZAGURY Gérald, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. MERCIER Guy, Ph.D., membre

REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier mon directeur de recherche, Gérald J. Zagury, grâce à qui j'ai appris (et apprend encore) ce que sont la patience et la rigueur. Il a toujours été présent et très disponible pour répondre à mes questions, pour me communiquer son savoir, et a très bien su m'encadrer tout au long de ma recherche. Je tiens également à le remercier pour les nombreuses heures qu'il a consacrées à mon projet, et plus particulièrement à l'article.

De plus, je voudrais remercier plus particulièrement Manon Leduc et Lucie Jean qui m'ont aidée tout au long de la partie expérimentale de ma recherche. Toutes deux ont toujours été très disponibles, et m'ont fourni de précieux conseils pour les manipulations.

J'aimerais exprimer aussi mes sincères remerciements à Carmen qui, par plusieurs discussions, m'a souvent éclairée grâce à ses remarques ou ses suggestions pertinentes.

Enfin, je voulais remercier mes parents et amis, ici à Montréal, comme en France, qui m'ont soutenue, encouragée et même supportée pendant toute la durée de ma maîtrise, même s'ils ne comprenaient pas toujours ce que je faisais ! En espérant que ce mémoire les éclaire un peu... !

RÉSUMÉ

Depuis les années 1970, l'arséniate de cuivre chromaté (ACC) a été très largement utilisé en Amérique du Nord en tant qu'agent de préservation du bois. L'ACC a en fait progressivement remplacé les produits de préservations organiques, tels que la créosote et le pentachlorophénol, grâce à un impact environnemental moindre. Cependant, une préoccupation est née quant à l'exposition potentielle des enfants aux trois métaux (arsenic, chrome et cuivre) qui composent l'ACC, et notamment à l'arsenic. En effet, des études antérieures ont montré que l'ACC pouvait se lixivier à partir du bois traité (par l'action de l'eau de pluie ou l'eau en contact avec le bois) et contaminer les sols proches de structures en bois traité. La contamination la plus forte est celle au cuivre, suivie des contaminations à l'arsenic puis au chrome. Mais le chrome et le cuivre ont une plus faible toxicité que l'arsenic, d'où un intérêt plus particulier pour l'arsenic.

L'ingestion d'eau potable et de nourriture est la principale voie d'exposition à l'arsenic, ceci aussi bien pour les adultes que les enfants. Cependant, en raison de leur habitude de mettre les mains à la bouche, l'ingestion de sol contaminé est une voie d'exposition non négligeable à l'arsenic pour les enfants. On estime que 90 % de l'absorption d'arsenic provenant des sols se fait par ingestion accidentelle plutôt que par inhalation ou contact dermique. Néanmoins, tout l'arsenic ingéré n'est pas disponible pour l'organisme. Seules les fractions d'arsenic qui sont biodisponibles représentent un risque pour la santé humaine. La biodisponibilité orale se définit comme la fraction d'un contaminant qui est retenue par l'organisme et atteint la circulation systémique (sang) depuis le système gastro-intestinal (GI). Cependant, une méthode de détermination *in vivo* de la biodisponibilité orale est longue et coûteuse à mettre en place. Des groupes de recherche ont donc développé des techniques *in vitro*, plus rapides et moins coûteuses, permettant de déterminer la biodisponibilité orale d'un contaminant. Ces méthodes mesurent en fait la bioaccessibilité d'un contaminant,

c'est-à-dire sa fraction soluble dans l'environnement GI et potentiellement disponible pour absorption intestinale.

L'objectif principal de ce projet est d'évaluer, dans un scénario d'ingestion accidentelle de sol contaminé, la biodisponibilité orale relative *in vitro* (i.e. la bioaccessibilité) de l'arsenic puis les bioaccessibilités du chrome et du cuivre, dans des sols prélevés à la base de poteaux traités à l'ACC-C/polymère additif (PA) en service. L'objectif secondaire est de déterminer l'influence de la composition et des propriétés des sols sur la bioaccessibilité des trois contaminants.

Pour cela, dans le cadre d'une étude plus générale de caractérisation physico-chimique et écotoxique de sols à proximité de poteaux en bois traité à l'ACC, 12 poteaux ont été installés dans quatre environnements différents (argileux, organiques et sablonneux) autour de Montréal en novembre 2002. Dix-huit mois après la mise en service des poteaux, des échantillons de sols en surface immédiatement adjacents à chaque poteau ont été prélevés et caractérisés. Les bioaccessibilités ont été déterminées en triplicata avec la méthode *in vitro* gastro-intestinale (IVG) dont les résultats pour l'arsenic sont équivalents à ceux obtenus avec une méthode de détermination de la biodisponibilité relative *in vivo*. Il s'agit d'une méthode d'extraction séquentielle à 37°C, comprenant une phase gastrique (1 h, pH = 1,8, avec ajout de pepsine et de chlorure de sodium) suivie d'une phase intestinale (1 h, pH = 5,5, avec ajout de pancréatine et de bile). Ce montage modélise un système digestif d'enfant. De plus, la bioaccessibilité des métaux a été déterminée sur des sols de référence internationaux (les NIST SRMs 2710 et 2711, et le RTC CRM 025-050) à des fins de comparaison inter laboratoires des méthodes *in vitro* et *in vivo* développées.

La caractérisation des sols révèle que la contamination au cuivre est la plus importante ($1\,215 \pm 1\,020$ mg/kg en moyenne, variant de $95,6 \pm 4,5$ à $3\,580 \pm 680$ mg/kg), suivie des contaminations à l'arsenic (169 ± 69 mg/kg en moyenne, s'échelonnant de

$37,4 \pm 2,5$ à 251 ± 12 mg/kg) et au chrome (150 ± 119 mg/kg en moyenne, comprise entre $26,4 \pm 2,1$ et 394 ± 53 mg/kg), ces deux dernières étant statistiquement équivalentes. De plus, si les contaminations au chrome et au cuivre sont hautement corrélées à la teneur en carbone organique total (COT) et augmentent avec elle, la contamination à l'arsenic reste élevée (par rapport aux critères génériques de décontamination des sols du Québec) quelle que soit la teneur en matière organique dans les sols.

Les valeurs de bioaccessibilité intestinale de chaque contaminant sont très différentes : la bioaccessibilité du chrome est globalement faible quel que soit le type de sol étudié, elle varie entre $0,0 \pm 0,0$ et $32,9 \pm 17,6$ %, avec une valeur moyenne de 9,1 %. La bioaccessibilité du cuivre est la plus importante, et varie entre $19,4 \pm 3,6$ % et $89,4 \pm 4,9$ %. Sa bioaccessibilité moyenne s'élève à 54,1 %. Enfin, la bioaccessibilité moyenne de l'arsenic est de 40,7 % ($25,0 \pm 2,7$ % - $66,3 \pm 2,3$ %). Le point commun aux trois contaminants est que leurs biodisponibilités orales in vitro ne dépendent pas de la teneur totale en contaminant dans les sols, mais sont plutôt liées aux propriétés physico-chimiques des sols, et notamment la granulométrie et la présence de matière organique. En effet, les bioaccessibilités du chrome et du cuivre sont inversement proportionnelles à la teneur en silt des sols ($r^2 = 0,39$; $p < 0,05$; $n = 12$ et $r^2 = 0,65$; $p < 0,01$ respectivement), alors que la bioaccessibilité de l'arsenic est positivement corrélée à la teneur en sable dans les sols peu organiques ($r^2 = 0,52$; $p < 0,05$; $n = 9$). La présence de matière organique affecte les bioaccessibilités des trois éléments : les bioaccessibilités du chrome et du cuivre augmentent lorsque la teneur en COT diminue, tandis que la bioaccessibilité de l'arsenic augmente avec le pourcentage de COT.

D'autre part, en ce qui concerne l'arsenic, il a été observé que sa bioaccessibilité dépendait en partie de son fractionnement dans les sols. Plus spécifiquement, l'arsenic bioaccessible et l'arsenic soluble dans l'eau sont positivement corrélés ($r^2 = 0,51$;

$p < 0,01$; $n = 12$). Par conséquent, la détermination de concentration d'arsenic soluble dans l'eau semble être une phase préliminaire utile dans l'évaluation de la biodisponibilité de l'arsenic des sols contaminés à l'ACC.

Ainsi, la bioaccessibilité dépend non seulement du contaminant, mais aussi du type de sol et du type de contamination étudiés. Dans un scénario d'ingestion accidentelle de sol contaminé par un poteau traité à l'ACC-C/PA à usage industriel, l'arsenic, le chrome et le cuivre ne présentent pas les mêmes risques pour la santé humaine, leurs toxicités sont très différentes. Pour le chrome, élément essentiel au bon fonctionnement de l'organisme, il ne présente pas de risque potentiel en cas d'ingestion de sol dans une contamination par l'ACC en raison de sa très faible bioaccessibilité et de ses faibles concentrations dans les sols notamment. Pour le cuivre, malgré de très fortes concentrations dans les sols et de forts pourcentages de bioaccessibilité (54 % en moyenne), il ne présente pas non plus de risque pour la santé humaine pour une telle contamination, puisque la quantité de cuivre dans l'environnement GI serait de $1,3 \mu\text{g/kg/j}$ en moyenne, soit $23 \mu\text{g/j}$ pour un enfant entre 2 et 6 ans, ce qui est négligeable devant le niveau de risque minimum (MRL) pour une exposition intermédiaire au cuivre par voie orale ($10 \mu\text{g/kg/j}$) ou devant une dose toxique pour l'organisme ($3\,200 \mu\text{g}$ pour un effet astringent). Enfin, en cas d'ingestion de sol proche d'un poteau traité à l'ACC-C/PA, seulement $0,18 \mu\text{g/kg/j}$ d'arsenic en moyenne serait absorbé, soit une dose de $3,2 \mu\text{g/j}$ pour un enfant de 2 à 6 ans, ce qui est négligeable devant le MRL pour une exposition chronique ($0,3 \mu\text{g/kg/j}$), et devant l'arsenic absorbé par jour dans la nourriture et l'eau ($0,20$ à $6,5 \mu\text{g/kg/j}$). De plus, malgré le fait que cette dose ait été estimée de façon très conservative (le scénario d'exposition à des poteaux traités à l'ACC est différent du scénario « habituel » d'exposition à des structures récréatives en bois traité), elle reste inférieure à la valeur d'arsenic environnemental acceptable de $4 \mu\text{g/j}$.

En conclusion, les risques pour la santé humaine suite à l'ingestion de sols contaminés (sableux, limoneux ou organiques) proches de poteaux en bois traité à l'ACC-C/PA sont très limités, aussi bien pour le chrome et le cuivre que l'arsenic. Néanmoins, pour affiner et compléter ces résultats, plusieurs aspects peuvent être approfondis, notamment la caractérisation physico-chimique des sols et la toxicité des contaminants selon leur spéciation dans le sol. Par exemple, les bioaccessibilités du chrome, du cuivre et de l'arsenic dépendent de la présence de matière organique ; aussi serait-il intéressant de mesurer le carbone organique dissous (COD) afin de connaître son influence. D'autre part, sachant que la toxicité d'un contaminant dépend de sa spéciation (As(III) vs As(V) ; Cr(III) vs Cr(VI)), une connaissance exacte de la spéciation de l'arsenic et du chrome dans le sol (avant le test de bioaccessibilité) et dans l'organisme (après le test) permettrait une meilleure évaluation de la toxicité des contaminant.

ABSTRACT

Since the 1970's, chromated copper arsenate (CCA) has been widely used in North America as an inorganic waterborne wood preservative. CCA has gradually replaced organic preservatives, such as creosote and pentachlorophenol, because of its lower environmental impact. However, an environmental concern is born and grows because of children potential exposure to the metals found in CCA (arsenic, copper and chromium), and more particularly to arsenic. In fact, previous studies have shown that CCA can leach from treated wood in service and can contaminate soils near treated-wood structures. Following the leaching of CCA components, copper is the predominant metal, followed by arsenic and chromium. However, the major environmental concern is related to soil contamination by arsenic, because of its toxicity and higher mobility in soils relative to chromium and copper.

Ingestion of drinking water and food is the primary exposure route to arsenic for adults and children. However, because of their hand-to-mouth activity, incidental ingestion of As-contaminated soil is a significant exposure pathway for children. Ninety percent of arsenic absorption from soils is estimated to occur via incidental ingestion rather than via dermal absorption or inhalation. Nevertheless, not all the ingested arsenic from soil is available for the organism; the fractions of arsenic that represent a risk for human health are the bioavailable ones. Oral bioavailability is defined as the fraction of a contaminant that reaches the systemic circulation (blood) from the gastrointestinal (GI) tract. In vivo bioavailability determination methods are time consuming and expensive to set up. Thus, numerous in vitro chemical methods have been developed because they are useful as rapid screening tools in assessing oral relative bioavailability of contaminants in soils. These methods measure the bioaccessibility of a contaminant, i.e. its soluble fraction dissolved in the GI environment and potentially available for intestinal absorption.

The main objective of this study is to assess the *in vitro* oral bioavailabilities (i.e. bioaccessibilities) of arsenic, chromium, and copper, in a scenario of incidental ingestion of contaminated soil near CCA-C/polymer additive (PA)-treated utility poles in service. The secondary objective is to determine the influence of soil properties on arsenic, chromium and copper bioaccessibilities.

In November 2002, twelve CCA-treated utility poles were installed in four different environments (clayey, organic and sandy soils) in the Montreal area. Eighteen months after the poles installation, surface soil samples immediately adjacent to each pole were collected and characterized. Bioaccessibilities were determined in triplicate according to the *in vitro* gastrointestinal (IVG) method, which has already been validated with *in vivo* tests on immature swine for arsenic. This sequential extraction method is performed at 37°C, with a gastric phase (1 h, pH = 1.8, with addition of pepsin and sodium chloride) followed by an intestinal phase (1 h, pH = 5.5, with addition of pancreatin and bile). This method mimics a child digestive tract. Metal bioaccessibilities were also determined on certified soils (NIST SRMs 2710 and 2711, and RTC CRM 025-050) in order to allow inter-laboratory comparisons between the different *in vitro* methods used to assess arsenic, chromium and copper bioaccessibilities.

The soil characterization revealed that copper concentration was the highest ($1\,215 \pm 1\,020$ mg/kg on average, varying from 95.6 ± 4.5 to $3\,580 \pm 680$ mg/kg), followed by arsenic (169 ± 69 mg/kg on average, ranging from 37.4 ± 2.5 to 251 ± 12 mg/kg) and chromium (150 ± 119 mg/kg on average, varying from 26.4 ± 2.1 to 394 ± 53 mg/kg) concentrations, which were statistically equivalent. Moreover, chromium and copper concentrations were highly and positively correlated with total organic carbon (TOC) content whereas arsenic contamination was high (compared to Quebec soil criteria) irrespective of organic matter content.

Intestinal bioaccessibility values of each contaminant were very different: chromium bioaccessibility was weak whatever the soil type and varied between 0.0 ± 0.0 and 32.9 ± 17.6 %, with an average value of 9.1 %. Copper bioaccessibility was the highest, and varied from 19.4 ± 3.6 % to 89.4 ± 4.9 %. Copper mean bioaccessibility was 54.1 %. Finally, mean arsenic bioaccessibility was 40.7 % (25.0 ± 2.7 % - 66.3 ± 2.3 %). In vitro oral bioavailabilities of the three contaminants did not depend on total metal content in soil but on physicochemical properties of soils, and more particularly on particle-size distribution and organic matter content. Chromium and copper bioaccessibilities were negatively correlated with silt content of soils ($r^2 = 0.39$, $p < 0.05$; $n = 12$ and $r^2 = 0.65$, $p < 0.01$ respectively), whereas arsenic bioaccessibility was positively correlated with sand content in less organic soils ($r^2 = 0.52$, $p < 0.05$, $n = 9$). Organic matter content influenced all contaminant bioaccessibilities. Chromium and copper bioaccessibilities increased when TOC content decreased whereas arsenic bioaccessibility increased with TOC.

Furthermore, arsenic bioaccessibility was dependent on its fractionation in soils. More specifically, water-soluble arsenic and bioaccessible arsenic were positively correlated ($r^2 = 0.51$, $p < 0.01$, $n = 12$). Consequently, water-soluble arsenic seemed to be a useful screening tool to assess arsenic bioavailability in soils.

In a scenario of incidental ingestion of contaminated soil near CCA-C/PA-treated wood poles, arsenic, chromium and copper would not have similar impacts on human health because their toxicities are different. Chromium does not represent a health risk in case of CCA-contaminated soil ingestion because of its very low bioaccessibility and its low concentration in soils. Furthermore, chromium is an essential element for human health. For copper, in spite of its very high concentration in soils and its high bioaccessibility (54 % on average), it does not represent a significant health risk, because the quantity of soluble copper in the GI environment would be $1.3 \mu\text{g/kg/d}$ on

average (23 $\mu\text{g}/\text{d}$ for a 2-6 year-old child), which represents only 13 % of the minimal risk level (MRL) for an intermediary oral exposure to copper (10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$). This intake is negligible compared to a toxic dose for human organism (3 200 μg for an astringent effect). Finally, in case of CCA-contaminated soil ingestion, 0.18 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ of arsenic would be ingested, i.e. an average dose of 3.2 $\mu\text{g}/\text{d}$, which is negligible compared to the MRL for a chronic exposure to arsenic (0.3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$), and compared to the daily intake of arsenic via drinking water and food (0.20 to 6,5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$). Moreover, even if this dose is estimated in a very conservative way (the exposure scenario near CCA-treated wood poles is different from the exposure scenario near CCA-treated playgrounds), it remains below the recommended environmental arsenic value of 4 $\mu\text{g}/\text{d}$.

In conclusion, human health risks following ingestion of contaminated soils (sandy, loamy or organic) near CCA-C/PA-treated wood utility poles appear limited for chromium, copper and arsenic. Nevertheless, to refine and complete our results, a more precise physicochemical soil characterization or the contaminant speciation in soil must be studied. The dissolved organic carbon should be assessed because chromium, copper and arsenic bioaccessibilities depend on organic matter content. Furthermore, as the toxicity of a contaminant highly depends on its speciation (As(III) vs. As(V) ; Cr(III) vs. Cr(VI)), knowing exactly arsenic and chromium speciations in soil (before the test) and in organism (after the test) would facilitate an accurate evaluation of real contaminant toxicity.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iv
RÉSUMÉ.....	v
ABSTRACT	x
TABLE DES MATIÈRES	xiv
LISTE DES TABLEAUX	xviii
LISTE DES FIGURES	xix
LISTE DES ANNEXES.....	xx
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xxi
CHAPITRE I. INTRODUCTION.....	1
1.1 Problématique et contexte de l'étude	1
1.2 Hypothèse de recherche et objectifs.....	4
1.3 Organisation du mémoire	5
1.4 Publication des résultats	6
CHAPITRE II. REVUE DE LITTÉRATURE	8
2.1 L'arséniate de cuivre chromaté.....	8
2.1.1 <i>Historique, caractéristiques et utilisations de l'ACC</i>	8
2.1.2 <i>Utilisations du bois traité et taux de rétention</i>	9
2.1.3 <i>Fabrication et fixation de l'ACC</i>	10
2.1.4 <i>Lixiviation de l'ACC</i>	12
2.1.5 <i>Spéciation du chrome et de l'arsenic dans le bois traité à l'ACC</i>	14
2.1.6 <i>Produits de remplacement de l'ACC pour la préservation du bois</i>	15
2.2 Critères génériques, évaluation de risques & exposition	17

2.2.1	<i>Critères génériques</i>	17
2.2.2	<i>Evaluation de risques</i>	19
2.2.3	<i>Quantification de l'exposition</i>	21
2.2.3.1	Biodisponibilité	22
2.2.3.2	Taux d'ingestion de sol	24
2.2.3.3	Fréquence & durée d'exposition	24
2.2.3.4	Temps moyen	25
2.2.3.5	Masse corporelle.....	25
2.2.3.6	Fractions de prise & de source	26
2.2.3.7	Equation d'exposition utilisée.....	27
2.2.4	<i>Niveaux d'exposition recommandés</i>	27
2.3	La bioaccessibilité.....	29
2.3.1	<i>Différentes méthodes de détermination</i>	29
2.3.2	<i>IVG vs PBET</i>	30
2.4	Le chrome et le cuivre	33
2.4.1	<i>Le chrome dans l'environnement</i>	34
2.4.1.1	Le chrome dans les sols	34
2.4.1.2	Le chrome en solution.....	35
2.4.2	<i>Le chrome dans l'organisme</i>	36
2.4.3	<i>Le cuivre dans l'environnement</i>	37
2.4.3.1	Le cuivre dans les sols	37
2.4.3.2	Le cuivre dans les plantes	39
2.4.4	<i>Le cuivre dans l'organisme</i>	39
2.5	L'arsenic	40
2.5.1	<i>L'arsenic dans les sols</i>	40
2.5.1.1	Spéciation de l'arsenic dans les sols	40
2.5.1.2	Fractionnement de l'arsenic dans les sols	42
2.5.2	<i>L'arsenic dans l'organisme</i>	43
2.5.2.1	Toxicité de l'arsenic dans l'organisme	43

2.5.2.2	Spéciation de l'arsenic dans l'organisme.....	44
---------	---	----

**CHAPITRE III : ARTICLE. IN VITRO GASTROINTESTINAL
BIOAVAILABILITY OF ARSENIC IN SOILS COLLECTED NEAR CCA-
TREATED UTILITY POLES..... 48**

3.1	Titre du manuscrit	48
3.2	Auteur et co-auteur.....	48
3.3	Abstract.....	48
3.4	Introduction.....	50
3.5	Experimental section	53
3.5.1	<i>Site description, soil samples and certified reference materials</i>	<i>53</i>
3.5.2	<i>Soil characterization</i>	<i>54</i>
3.5.3	<i>Total arsenic concentrations.....</i>	<i>55</i>
3.5.4	<i>Soil-bound arsenic, water-soluble arsenic and hydroxylamine hydrochloride extractable arsenic</i>	<i>56</i>
3.5.5	<i>In vitro gastrointestinal bioaccessibility</i>	<i>57</i>
3.5.6	<i>Quality assurance, quality control.....</i>	<i>58</i>
3.5.7	<i>Bioaccessibility and exposure assessment calculations.....</i>	<i>59</i>
3.6	Results and discussion.....	60
3.6.1	<i>Comparison of digestion methods.....</i>	<i>60</i>
3.6.2	<i>Soil properties and total arsenic.....</i>	<i>60</i>
3.6.3	<i>Soil-bound arsenic, hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic, and water-soluble arsenic</i>	<i>62</i>
3.6.4	<i>Bioaccessible arsenic in field-collected soils</i>	<i>63</i>
3.6.5	<i>Bioaccessible arsenic in standard reference soil materials</i>	<i>65</i>
3.6.6	<i>In vitro bioavailability and exposure assessment</i>	<i>65</i>
3.7	Acknowledgements	66
3.8	Literature cited	67

CHAPITRE IV. BIOACCESSIBILITÉS DU CHROME ET DU CUIVRE	76
4.1 Matériels et méthodes.....	76
4.1 Résultats et discussion : le chrome.....	77
4.1.1 <i>Chrome total et chrome soluble</i>	77
4.1.1.1 Comparaison des digestions.....	77
4.1.1.2 Teneur en chrome dans les sols.....	78
4.1.1.3 Chrome soluble et échangeable.....	80
4.1.2 <i>Bioaccessibilité du chrome</i>	80
4.2 Résultats et discussion : le cuivre	83
4.2.1 <i>Cuivre total et cuivre soluble</i>	83
4.2.1.1 Comparaison des digestions.....	83
4.2.1.2 Teneur en cuivre dans les sols.....	84
4.2.1.3 Cuivre soluble et échangeable.....	86
4.2.2 <i>Bioaccessibilité du cuivre</i>	86
CHAPITRE V. DISCUSSION GÉNÉRALE & CONCLUSIONS.....	88
CHAPITRE VI. RECOMMANDATIONS.....	93
6.1 Validation & spéciation.....	93
6.2 Caractérisation physico-chimique additionnelle.....	95
CHAPITRE VII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	97
ANNEXES.....	111

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 : Formulations de l'ACC (en %, p/p)	8
Tableau 2.2 : Critères génériques pour les sols (mg/kg sol sec)	18
Tableau 2.3 : MRLs pour l'arsenic et le cuivre par voie d'exposition orale (en µg/kg/j)	28
Tableau 3.1: Total arsenic content (mg/kg) of 3 standard reference materials following different digestion methods	72
Tableau 3.2: Physicochemical properties of soils (< 2 mm) collected near 12 CCA-treated utility poles and SRM soil samples.	73
Tableau 3.3: Fractionation of arsenic in soils (< 300 µm) collected near 12 CCA-treated poles in service	74
Tableau 3.4: Bioaccessible arsenic in surface soils (< 300 µm) collected near 12 CCA-treated utility poles and in certified soil samples.....	75
Tableau 4.1 : Chrome total dans les sols de référence par différentes méthodes de digestion (mg/kg)	78
Tableau 4.2 : Fractionnement et bioaccessibilité du chrome dans les sols (< 300 µm) prélevés au pied de poteaux traités à l'ACC-C/PA.....	79
Tableau 4.3 : Cuivre total dans les sols de référence par différentes méthodes de digestion (mg/kg)	84
Tableau 4.4 : Fractionnement et bioaccessibilité du cuivre dans les sols (< 300 µm) prélevés au pied de poteaux traités à l'ACC-C/PA.....	85
Tableau 5.1 : Bioaccessibilité intestinale des métaux en mg/kg sol sec.....	90
Tableau 5.2 : Prise journalière moyenne de contaminants et MRLs par voie orale.....	92

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 : Schéma sommaire d'une usine de fabrication de concentré d'ACC	11
Figure 2.2 : Schéma du design expérimental de la méthode IVG & photo	31
Figure 2.3 : Schéma du design expérimental du PBET	32
Figure 2.4 : Cycle de l'arsenic dans le système gastro-intestinal.....	45
Figure 2.5 : Biométhylation de l'arsenic	46

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX..... 112

Détermination de la Bioaccessibilité in vitro de l'Arsenic dans des Sols Contaminés par l'ACC	112
Extraction de l'Arsenic contenu dans un Sol Contaminé par le CCA-PA lié aux Oxydes de Fer et de Manganèse par Hydrochlorure Hydroxylamine	125

ANNEXE 2 : TABLEAUX DE CALCULS..... 131

Détermination de la Bioaccessibilité de l'Arsenic	131
Détermination de la Bioaccessibilité du Chrome	133
Détermination de la Bioaccessibilité du Cuivre	135
Détermination de la Prise d'Arsenic Journalière par un Enfant	137
Détermination de la Prise de Cuivre Journalière par un Enfant	138

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AB	Arsénobétaïne
ABA	Absolute bioavailability (biodisponibilité absolue)
AC	Arsénocholine
ACC	Arséniate de cuivre chromaté
ACQ	Alkaline copper quaternary (cuivre alcalin quaternaire)
ACS	American Chemical Society
ADN	Acide désoxyribonucléique
APDC	Ammonium pyrolidine dithiocarbamate
As	Arsenic
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
B	Biodisponibilité ; bioavailability
BW	Body weight
CBA	Copper boron azole (azole de cuivre et de bore)
CCA	Chromated copper arsenate
CCB	Chromated copper borate (borate de cuivre chromaté)
CDI	Chemical daily intake
CEC	Capacité d'échange cationique ; cationic exchange capacity
CF	Unit conversion factor
COD	Carbone organique dissout
COT	Carbone organique total
Cr	Chrome
CRM	Certified Reference Material
CS	Concentration de contaminant dans le sol

Cu	Cuivre
DDAC	Didecyldimethyl ammonium chloride (chlorure de didecyldiméthyl ammonium)
DE	Durée d'exposition
DJC	Dose journalière de contaminant
DMA	Diméthylarsine
DMAA(III)	Dimethylarsinous acid (acide d'arsenic (III) diméthylé)
DMAA(V)	Dimethylarsinic acid (acide d'arsenic (V) diméthylé)
EF	Exposure frequency
EPC	Exposure point concentration
FC	Facteur de conversion d'unités
Fe	Fer
FE	Fréquence d'exposition
FP	Fraction de prise
FQRNT	Fond Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies
FS	Fraction de source
GI	Gastro-intestinal(e) ; gastrointestinal
GJST	Gastric Juice Simulation Test (test par simulation du suc gastrique)
ICP-AES-HG	Inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry – hydride generation
ICP-MS	Inductively coupled plasma – mass spectrometry
IVG	In vitro gastro-intestinal(e) ; in vitro gastrointestinal
LD ₅₀	Lethal dose at 50 % of mortality (dose létale à 50 % de mortalité)

LQE	Loi sur la qualité de l'environnement
M	Molaire ; molar
MC	Masse corporelle
MIBK	Methyl isobutyl ketone
MMA	Monométhylarsine
MMAA(III)	Monomethylarsonous acid (acide d'arsenic (III) monométhylé)
MMAA(V)	Monomethylarsonic acid (acide d'arsenic (V) monométhylé)
Mn	Manganèse
MRL	Minimal Risk Level
NIST	National Institute of Science and Technology
NSERC	Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada
φ	Phase
PA	Polymère additive ; polymer additive
PBET	Physiologically based extraction test (test d'extraction basé sur la physiologie)
PCP	Pentachlorophénol
PEG	Polyéthylène glycol ; polyethylene glycol
PJC	Prise journalière de contaminant
ppb	Partie par billion
PPCO	Polypropylene copolymer (copolymère de polypropylène)
ppm	Partie par million
RBA	Relative bioavailability (biodisponibilité relative)
RME	Reasonable maximum exposure
RTC	Resource Technology Corporation

SIR	Soil ingestion rate
SRM	Standard Reference Material
t	Temps
TI	Taux d'ingestion de sol
TM	Temps moyen
TMA	Triméthylarsine
TMAO	Trimethylarsine oxide (oxyde de triméthylarsine)
TOC	Total organic carbon
UEF	Urinary excretion fraction (fraction d'excrétion urinaire)
USDA	United States Department of Agriculture
USEPA	United State Environmental Protection Agency
vs	Versus

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Problématique et contexte de l'étude

L'arsenic, le chrome et le cuivre sont trois éléments naturellement présents dans la croûte terrestre, les eaux ou les sols. Le chrome et le cuivre sont des métaux, alors que l'arsenic est un métalloïde. Dans la suite de ce mémoire, le terme « métal » sera employé pour simplifier la lecture du document. L'accumulation de cuivre, de chrome ou d'arsenic peut être provoquée par des activités humaines telles que l'industrie minière ou l'agriculture (compléments agricoles, pesticides ou herbicides), ou encore l'industrie de préservation du bois (Smith *et al.*, 1998). En effet, ces trois métaux peuvent être combinés en solution aqueuse diluée, i.e. de 0,5 à 10 % (v/v) (Dubé *et al.*, 2004), utilisée en tant que pesticide et agent de préservation du bois, l'arséniate de cuivre chromaté (ACC). A cause de la présence d'arsenic, une problématique environnementale s'est développée concernant l'utilisation de l'ACC. L'arsenic est en effet le seul composant cancérigène dans l'ACC (Dubé *et al.*, 2004) et c'est aussi le plus mobile et toxique des trois éléments dans les sols (Andersen *et al.*, 1996 ; Stilwell et Gorny, 1997 ; Zagury *et al.*, 2003a). De plus, ces trois contaminants sont listés comme polluants prioritaires par l'Agence de Protection Environnementale des Etats-Unis (USEPA) (Hingston *et al.*, 2001).

Une des problématiques environnementales liées à l'utilisation de l'ACC est associée au potentiel de contamination du sol par les trois métaux. En effet, une contamination due à l'ACC peut être rencontrée dans des sols proches de constructions domestiques en bois traité (aires de jeux pour les enfants, tables de pique-nique, barrières de jardin), proches de plateformes, barrières ou poteaux industriels en bois traité, ou encore proches de sites d'imprégnation du bois (Chirenje *et al.*, 2003 ; Zagury et Pouschat,

2005). L'ACC pouvant se trouver dans les sols proches de bois à usage domestique, une préoccupation environnementale s'est développée plus particulièrement quant à l'exposition des enfants à l'arsenic, à cause de leur habitude de mettre les mains à la bouche (Rodriguez *et al.*, 1999, 2003).

Aujourd'hui, l'utilisation de l'ACC est réglementée. Par exemple, aux États-Unis et au Canada, il est interdit de l'utiliser depuis le 1 janvier 2004 pour traiter le bois à usage domestique (Santé Canada, 2002 ; Katz et Salem, 2005). De même, en Europe, une directive de janvier 2003 empêche l'utilisation de bois traité à des fins non industrielles (Dubé *et al.*, 2004). Cependant, depuis plus de 60 ans, beaucoup de bois à usage résidentiel ou domestique a été produit, vendu et installé, et il est aujourd'hui toujours en place. La population est donc toujours en contact régulier avec l'ACC, et ce par différentes voies d'exposition telles que le contact dermique direct avec le bois traité ou l'ingestion de sol contaminé (Hemond et Solo-Gabriele, 2004).

Certaines études ont montré que des quantités variables de chrome, de cuivre et d'arsenic peuvent contaminer par lixiviation le sol au voisinage immédiat du bois traité (Stilwell et Gorny, 1997 ; Chirenje *et al.*, 2003 ; Zagury *et al.*, 2003a). De manière générale, les teneurs en cuivre sont les plus élevées, suivies des teneurs en arsenic puis en chrome (Cooper *et al.*, 1997 ; Zagury *et al.*, 2003a). À l'inverse, dans la solution d'ACC de type C (le plus utilisé actuellement), la proportion de chrome est la plus grande, suivie de la proportion d'arsenic, et enfin de celle de cuivre. De plus, dans les premiers 25 cm autour du poteau, les métaux peuvent parfois dépasser les critères génériques de contamination des sols en vigueur définis par le Ministère de l'Environnement du Québec (Zagury *et al.*, 2003a). Cependant, ces critères sont établis à partir de la teneur totale en contaminant dans le sol. Or, la toxicité d'un contaminant dans un sol ne dépend pas de sa teneur totale dans le sol. De même, l'évaluation de risques ne prend généralement en compte que les concentrations totales en agents toxiques dans les sols, alors que les seules fractions d'un contaminant susceptibles de

présenter un risque pour la santé humaine sont celles « biologiquement absorbables », c'est-à-dire biodisponibles. La biodisponibilité orale est définie comme la fraction d'un contaminant qui est retenue par le corps, absorbée par le système gastro-intestinal (GI) et qui atteint la circulation systémique (Ruby *et al.*, 1999). Une méthode d'estimation de la biodisponibilité orale *in vivo* étant difficile et coûteuse à mettre en place, des recherches ont été effectuées pour développer une méthode *in vitro*, plus rapide et moins coûteuse, permettant d'estimer avec justesse la biodisponibilité orale. Une telle méthode permet en fait de mesurer la bioaccessibilité d'un contaminant, c'est-à-dire la fraction soluble d'un contaminant dans l'environnement GI (Ruby *et al.*, 1999 ; Ellickson *et al.*, 2001 ; Oomen *et al.*, 2002), et potentiellement disponible pour absorption.

Parmi toutes les méthodes chimiques *in vitro* qui ont été développées, nous avons choisi de tester la méthode *in vitro* gastro-intestinale (IVG) parce qu'elle a déjà été validée pour la détermination de la biodisponibilité relative de l'arsenic à l'aide de tests *in vivo* menés en parallèle sur des porcelets (Rodriguez *et al.*, 1999 ; Konuk, 2003 ; Lefevre, 2003). De plus, cette méthode d'extraction a obtenu une corrélation plus élevée avec les tests *in vivo* que le test d'extraction basé sur la physiologie (PBET), développé par Ruby *et al.* (1996) (Basta *et al.*, 2001). La méthode d'extraction séquentielle IVG nous a donc permis de tester des sols contaminés par des poteaux en bois traités à l'ACC-C/polymère additif (PA) en service dans le cadre d'un projet industriel qui a débuté en 2002 (Zagury *et al.*, 2003b).

A ce titre, différentes études ont déjà été réalisées, et plusieurs protocoles mis en place. L'objectif plus général du projet industriel était d'étudier le comportement environnemental des métaux provenant de poteaux en service traités à l'ACC-C/PA. Pour cela, quatre sites aux environnements hydrogéologiques différents ont été sélectionnés dans la région de Montréal (Québec). En effet, de précédentes études ont suggéré que les propriétés physico-chimiques des sols influencent la teneur en métal

dans les sols près d'un poteau (Cooper *et al.*, 1997 ; Balasoïu *et al.*, 2001 ; Zagury *et al.*, 2003a). Ensuite, trois poteaux en pin gris (« Jack Pine ») nouvellement traités à l'ACC-C/PA ont été installés sur chaque site (soit 12 poteaux au total). Depuis décembre 2002, un suivi environnemental est effectué, avec des échantillonnages à $t = 6, 18$ et 36 mois. Le professeur Zagury a suggéré d'intégrer l'étude de la bioaccessibilité des métaux composant l'ACC dans ce projet, et les résultats présentés ci-après sont ceux obtenus après 18 mois de service des poteaux.

1.2 Hypothèse de recherche et objectifs

Le projet est fondé sur deux hypothèses de recherche :

- ♦ une méthode d'extraction gastro-intestinale in vitro permet d'évaluer avec justesse et précision la biodisponibilité orale relative de l'arsenic, du chrome et du cuivre dans des sols contaminés à l'ACC ;
- ♦ les bioaccessibilités de l'arsenic, du chrome et du cuivre sont fonction des propriétés physico-chimiques des sols et non de leurs concentrations totales dans les sols.

L'objectif principal du projet est :

- ♦ la détermination de la bioaccessibilité gastro-intestinale in vitro de l'arsenic, puis du chrome et du cuivre dans des sols prélevés près de poteaux en service traités à l'ACC.

Pour atteindre cet objectif principal, plusieurs objectifs secondaires ont été définis :

- ♦ choisir une méthode d'extraction permettant de connaître le plus précisément possible la concentration totale en métal dans les sols ;
- ♦ déterminer les caractéristiques physico-chimiques d'un sol susceptibles d'intervenir dans la bioaccessibilité des métaux ;

- ◆ déterminer le fractionnement et la spéciation (arsenic seulement) des métaux dans les sols afin de connaître la forme prépondérante bioaccessible ;
- ◆ déterminer la bioaccessibilité des métaux dans des sols de référence internationaux (SRMs, CRMs) ;
- ◆ estimer la prise journalière de contaminant (arsenic en particulier) suite à l'ingestion accidentelle de sol à la base des poteaux.

1.3 Organisation du mémoire

Le présent mémoire s'articule en sept chapitres. Le présent chapitre est dédié à la problématique environnementale grandissante associée aux sols contaminés par l'ACC, ainsi qu'à la définition de l'hypothèse de recherche et des objectifs. Le deuxième chapitre présente une revue de littérature sur les éléments pertinents à la compréhension du projet de recherche défini. Ainsi, une première section expose les caractéristiques de l'ACC, la deuxième section explique les notions d'évaluation des risques et d'exposition, et la troisième section est consacrée au concept de bioaccessibilité. L'avant-dernière section rappelle les connaissances importantes concernant le chrome et le cuivre qui permettent une meilleure compréhension de leur biodisponibilité, et enfin, la dernière section est consacrée à l'arsenic dans les sols et dans l'organisme.

Le troisième chapitre contient un article soumis à *Environmental Science and Technology* le 29 novembre 2005 et traitant de la biodisponibilité gastro-intestinale in vitro de l'arsenic. Il s'articule en trois parties principales : tout d'abord une introduction présentant les idées nécessaires à la compréhension de la méthode et des résultats et permettant la justification de la démarche entreprise, puis une section « expérimentale » sur la méthodologie employée pour la détermination de la

bioaccessibilité et des propriétés des sols, et enfin, une partie présentant les résultats et les discutant en fonction des connaissances actuelles. Le quatrième chapitre expose les résultats obtenus dans le cadre d'essais de bioaccessibilité in vitro pour le chrome et le cuivre, analysés selon les caractéristiques physico-chimiques des sols testés.

Le chapitre cinq contient une discussion générale et des conclusions. Le sixième chapitre contient une série de recommandations. Enfin, le septième chapitre clôt le présent mémoire par les références bibliographiques.

1.4 Publication des résultats

Une partie des résultats de ce travail de recherche fait l'objet d'une publication scientifique soumise à une revue scientifique de niveau international et actuellement en cours d'évaluation :

POUSCHAT, P, ZAGURY, G. J. 2005. « In vitro gastrointestinal bioavailability of arsenic in soils collected near CCA-treated utility poles ». *Environmental Science and Technology*.

Certains résultats ont également fait l'objet de communications orales à des conférences et des congrès avec comité de lecture tenus au Québec et aux États-Unis :

POUSCHAT, P., ZAGURY, G. J. 2005. « Biodisponibilité orale in vitro de l'arsenic, du chrome et du cuivre dans des sols prélevés à proximité de poteaux traités à l'arséniate de cuivre chromaté (ACC) ». *21^e Congrès régional de l'Est du Canada de l'Association Canadienne de la Qualité de l'Eau (ACQE)*. INRS-Eau, Terre et Environnement, Québec, 4 novembre.

ZAGURY, G. J., POUSCHAT, P. 2005. « In vitro gastrointestinal bioavailability of arsenic in soils collected near CCA-treated utility poles ». *The 21st Annual International Conference on Soils, Sediments, and Water*. University of Massachusetts at Amherst, MA, USA, October 17-20.

POUSCHAT, P., ZAGURY, G. J. 2005. « Biodisponibilité orale in vitro de l'arsenic, du chrome et du cuivre dans des sols contaminés par l'arséniate de cuivre chromaté (CCA) ». *9^e Colloque annuel du Chapitre Saint-Laurent*. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC-SRA), Montréal, 2-3 juin.

CHAPITRE II

REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 L'arséniate de cuivre chromaté

2.1.1 Historique, caractéristiques et utilisations de l'ACC

L'arséniate de cuivre chromaté est un agent de préservation du bois inorganique aqueux très utilisé partout dans le monde depuis plus de 60 ans (Hingston *et al.*, 2001). L'ACC permet de conserver l'unité structurale du bois pendant 20 à 40 ans selon l'utilisation et l'endroit où le bois traité est installé (Chirenje *et al.*, 2003). L'ACC a en fait très largement remplacé les produits de traitement du bois organiques tels que la créosote ou le pentachlorophénol (PCP), notamment grâce à un coût et un impact environnemental moindres et à une disponibilité accrue (Hingston *et al.*, 2001).

La solution d'ACC est préparée à partir d'oxydes d'arsenic (As), de chrome (Cr) et de cuivre (Cu) mélangés en diverses proportions. Plusieurs formulations ont été développées au fil des ans, et plus particulièrement les ACC de types A, B et C (Tableau 2.1).

Tableau 2.1 : Formulations de l'ACC (en %, p/p)

Type d'ACC	CuO	CrO ₃	As ₂ O ₅
	<i>Cu(II)</i>	<i>Cr(VI)</i>	<i>As(V)</i>
A	18,1	65,5	16,4
B	19,6	35,3	45,1
C	18,5	47,5	34,0

(Source : Cooper, 1994)

L'ACC-A a quasiment disparu, tandis que beaucoup de bois traité à l'ACC-B, très utilisé dans les années 70, est encore en service actuellement. C'est la formulation avec le plus fort taux d'arsenic lixivié, et donc le plus fort taux d'arsenic accumulé dans les sols adjacents aux structures en bois (Cooper, 1994). L'ACC-C est le moins sensible à la lixiviation, ceci grâce à un meilleur rapport Cr/As (Cooper, 1994 ; Guo *et al.*, 2005), et depuis les vingt dernières années, c'est pratiquement le seul utilisé en Amérique du Nord par les usines de traitement du bois (Cooper, 1994).

Les trois métaux composant l'ACC ont été choisis d'après leurs propriétés biocides et fixatrices : le cuivre est reconnu comme excellent fongicide et l'arsenic comme excellent insecticide, alors que le chrome est utilisé en tant qu'agent de fixation de l'As à la cellulose et aux autres composants du bois par complexation (Chirenje *et al.*, 2003).

2.1.2 Utilisations du bois traité et taux de rétention

Le bois traité à l'ACC est destiné à différents usages, aussi bien terrestres que maritimes : pour l'agriculture (piquets de clôture, tuteurs, etc.), pour la construction (pontons, chalets, abris de jardin, bois utilisé dans la réalisation de terrasses, balustrades, escaliers, etc.), pour des structures de loisirs (aires de jeux de plein air pour les enfants, tables de pique-nique et bancs, etc.) (traitement interdit aujourd'hui, mais structures existantes au 1^{er} janvier 2004 toujours en service), ou pour des usages industriels tels que des barrières antibruit, des plateformes ou des poteaux supportant les câbles électriques ou de télécommunication (Chirenje *et al.*, 2003 ; Zagury et Pouschat, 2005).

De plus, selon l'utilisation prévue pour le bois traité, le taux de rétention de l'ACC dans le bois varie de 4 à 40 kg ACC/m³ (Environnement Canada, 2002 ; Chirenje *et al.*, 2003) :

- ◆ produits résidentiels (plus de traitement à l'ACC, mais structures existantes toujours en place), contre-plaqué, bois de construction : 4 à 6,4 kg ACC/m³ ;
- ◆ produits commerciaux et industriels : 6,4 à 9,6 kg/m³ ;
- ◆ produits marins : 12,8 à 40 kg/m³.

2.1.3 Fabrication et fixation de l'ACC

Au Canada, pour fabriquer l'ACC liquide, on mélange de l'acide chromique liquide (CrO₃ en solution aqueuse à 60 %), de l'acide arsénique (As₂O₅ en solution aqueuse à 75 %) et du cuivre à l'état solide (oxyde CuO) pendant environ deux heures afin de former un concentré à 50 %. Le concentré est ensuite versé dans un bac de décantation, puis filtré et transféré dans un réservoir de stockage (Figure 2.1) (Environnement Canada, 2002). L'ACC est ensuite commercialisé sous forme de solution aqueuse dense, diluée entre 0,5 et 10 % (v/v) (Dubé *et al.*, 2004).

Le traitement du bois par l'ACC implique une déshydratation sous vide pendant 30 à 60 minutes, suivie d'une imprégnation par injection de la solution sous pression (Cooper, 1994 ; Environnement Canada, 2002 ; Katz et Salem, 2005). La pression appliquée peut atteindre 1 040 kPa, ce qui force la solution à pénétrer le bois jusqu'à obtention du taux de rétention d'ACC voulu. Cela peut prendre plusieurs heures selon le type de bois à traiter. La pression est ensuite relâchée, et le produit de préservation en excès est pompé à l'intérieur du réservoir de stockage de la solution de travail. On applique à nouveau un vide afin d'éliminer l'ACC en excès de la surface du bois. Il ne reste plus qu'à entreposer le bois traité dans une aire spéciale (aire d'égouttement)

jusqu'à ce que la solution ne s'égoutte plus du bois (Environnement Canada, 2002). Le taux de fixation dépend de plusieurs paramètres, et notamment le climat, la température extérieure, l'humidité relative du bois, l'espèce de bois à traiter ou la formulation d'ACC utilisée (Cooper, 1994). Le procédé de traitement à l'ACC est un procédé en circuit fermé utilisant l'eau de traitement et d'autres eaux contaminées qui sont recueillies, filtrées et recyclées sous forme d'eau de mélange (Environnement Canada, 2002). La récupération de l'eau de traitement permet d'éviter toute pollution supplémentaire.

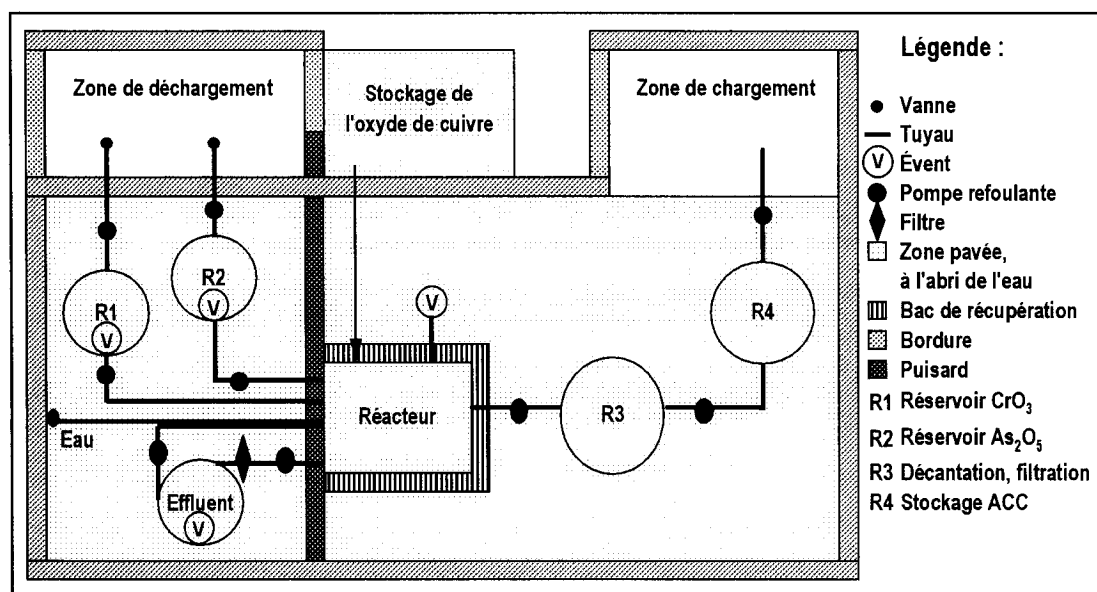


Figure 2.1 : Schéma sommaire d'une usine de fabrication de concentré d'ACC

(Source : Environnement Canada, 2002)

Bien que le mécanisme de fixation ne soit pas exactement connu, le procédé est généralement défini par la réduction du chrome hexavalent (très réactif et très mobile) en chrome trivalent (moins réactif et moins mobile) (Hingston *et al.*, 2001 ; Guo *et al.*, 2005). Cette étape permet la formation dans le bois de complexes métalliques hautement insolubles (Hingston *et al.*, 2001), tels qu'arséniates de chrome (III), CrAsO_4 , (arsenic pentavalent), hydroxydes de chrome (III), $\text{Cr}(\text{OH})_3$, ou encore de

complexes de carboxylates de cuivre (II) (Dubé *et al.*, 2004 ; Nico *et al.*, 2004). L'arsenic catalyse la réaction de réduction (Guo *et al.*, 2005).

Si l'arsenic et le cuivre n'ont besoin que de peu de temps pour se stabiliser, le chrome continue à être disponible pour la lixiviation plus longtemps. En effet, le Cr(VI) est le composant de l'ACC mettant le plus de temps à être immobilisé (Cooper, 1994). Par exemple, à 15°C le temps de fixation est estimé à 14 jours environ (Hingston *et al.*, 2001). En fait, il a été observé que plus la proportion de chrome était élevée, plus le temps de fixation était long (Guo *et al.*, 2005). De plus, les réactions qui ont lieu dans le bois (pendant la fixation de l'ACC) ont une grande influence sur la spéciation du métal lixivié, et donc sur la toxicité de ces lixiviats (Hingston *et al.*, 2001). Il est donc recommandé de ne pas déplacer le bois du site d'imprégnation avant que les réactions chimiques de fixation ne soient complètes (Cooper, 1994).

Le traitement de 1 m³ de bois requiert 250 L d'ACC en moyenne. Donc, selon le taux de rétention souhaité, les concentrations d'arsenic, de chrome ou de cuivre dans un bois nouvellement traité s'élèvent de 1 000 à 5 000 mg/kg (Stilwell et Gorny, 1997 ; Chirenje *et al.*, 2003). Cependant, la concentration de la solution, ainsi que le taux de rétention souhaité ne semblent pas avoir une influence majeure dans le taux de fixation. En revanche, le taux de rétention influera sur le taux de lixiviation, même si actuellement, la relation entre les deux n'est pas encore vraiment connue (Hingston *et al.*, 2001).

2.1.4 Lixiviation de l'ACC

Pour diverses raisons, l'ACC peut migrer du poteau vers l'environnement, et ainsi contaminer ce dernier. En effet, le bois traité à l'ACC contamine notamment les sols (proches de structures en bois ou les sites d'imprégnation), l'eau souterraine et l'eau de

surface. Cette contamination « primaire » pourrait théoriquement engendrer une contamination « secondaire » des plantes qui poussent sur les sols contaminés ou grâce à de l'eau contaminée par l'ACC. Ceci pourrait engendrer des risques pour la santé de ceux qui sont en contact avec ces plantes, ces sols ou ces eaux. Les impacts environnementaux potentiels sont donc multiples.

Une des raisons principales de contamination de l'environnement est une fixation de l'ACC dans le bois incomplète. Ceci arrive notamment lors des traitements effectués l'hiver : le temps de fixation est beaucoup plus long que l'été (Cooper, 1994). Mais pour un bois ayant eu un temps de fixation suffisamment long, la contamination de l'environnement par l'ACC est principalement due à la lixiviation et à des pertes mécaniques de dépôts surfaciques depuis le bois en service (Cooper, 1994). La lixiviation est fonction des conditions d'exposition du bois traité, et notamment de la température et de l'humidité. Par exemple, un bois exposé à des conditions de pluies abondantes sous un climat annuel tempéré sera plus susceptible à la lixiviation qu'un bois utilisé dans un climat froid et sec, tel que celui du Québec pendant la moitié de l'année. De plus, du bois positionné verticalement, tel qu'un poteau, permettra moins de lixiviation qu'un bois positionné horizontalement, comme une plateforme, grâce à une plus petite surface de contact avec l'eau de pluie (Cooper, 1994).

Il est à noter qu'une échelle de lixiviation en fonction des conditions d'exposition a été déterminée (Cooper, 1994). Sur cette échelle, les poteaux en bois traités exposés à un sol font partie de l'une des catégories les moins dangereuses. De plus, quelle que soit la formulation d'agent de préservation utilisée, les pertes d'ACC sont les plus abondantes juste après l'installation du bois traité, et s'atténuent dans le temps (Cooper, 1994 ; Hingston *et al.*, 2001). Peu d'études ont été menées, mais une analyse des pertes d'ACC-B et C depuis du bois traité réalisée sur 10 ans a montré que pendant les premiers mois après sa mise en service, le bois traité avait perdu environ 20 % de sa concentration d'arsenic, alors que les pertes en chrome et en cuivre étaient restées non

déTECTABLES pendant les 10 ans. Les complexes de cuivre et de chrome sont en effet très peu solubles par rapport à ceux d'arsenic (Cooper, 1994).

De plus, le pH de la solution lixivante (eau de pluie en général) est un facteur majeur dans la lixiviation des complexes d'arsenic, de chrome et de cuivre dans le bois. La solubilité des composés fixés de l'ACC augmente lorsque l'acidité de l'eau de lixiviation augmente (Cooper, 1994 ; Stook *et al.*, 2005). De ce fait, des pluies plus acides (ce qui est le cas des pluies nord-américaines aujourd'hui : pH de 4,1 à 4,5) vont lixivier de plus grandes quantités d'ACC (Stilwell et Gorny, 1997). Cependant, cette augmentation ne semble pas avoir été quantifiée ou publiée.

2.1.5 Spéciation du chrome et de l'arsenic dans le bois traité à l'ACC

Les toxicités de l'arsenic et du chrome sont fonction de leur spéciation. En effet, certaines formes de l'arsenic et du chrome sont plus mobiles et plus toxiques que d'autres formes, même si les critères ne tiennent pas forcément compte de cet effet toxique. Mais les spéciations de l'arsenic et du chrome dans le bois sont mal connues. En effet, pour l'un comme pour l'autre, des résultats contradictoires ont été trouvés.

Pour le chrome, Nico *et al.* (2004) n'ont trouvé aucune trace de Cr(VI) dans du bois traité à l'ACC. De même, Cooper *et al.* (2004), en étudiant les lixiviats par chromatographie ionique de différents types de bois (tous traités à l'ACC-C) ont trouvé des valeurs de Cr(VI) inférieures ou très proches de la limite de détection (0,5 ppb), ce qui représentait une proportion de chrome hexavalent inférieure à 0,1 % du chrome total lixivié, et la proportion de Cr(VI) dans des échantillons d'eau essorée (eau obtenue en pressant des échantillons de bois humides) était inférieure à 0,01 %. Dans ces études, il est donc clair que seul du chrome trivalent peut se lixivier du bois. Inversement, d'autres études ont reporté l'existence de Cr(VI) dans le bois : selon

Hingston *et al.* (2001), environ 10 % du chrome total injecté reste sous forme hexavalente, mais est lié irréversiblement au bois et est donc incapable de se lixivier (mais le taux de chrome (VI) n'ayant pas réagi dans le bois serait directement corrélé à la concentration en métaux du lixiviat), et d'après Katz et Salem (2005), du Cr(VI) a été trouvé en très petite quantité dans du bois traité. Dans tous les cas, la forme majoritaire retrouvée dans le bois traité est du Cr(III), forme la moins mobile et la moins toxique.

Il en va de même pour l'arsenic : Nico *et al.* (2004) n'ont trouvé aucune trace d'arsénite (ou As(III)), et le même résultat a été reporté par Katz et Salem (2005). Cependant, Hingston *et al.* (2001) ont reporté que l'As(III) pouvait représenter environ 3 % de l'arsenic total dans le bois traité, et Khan *et al.* (2004) ont trouvé que l'As(III) inorganique se lixivait de plus en plus avec le vieillissement du bois en service, ceci étant dû à des transformations chimiques et biologiques pendant le processus de vieillissement. De plus, Katz et Salem (2005) ont aussi rapporté que de l'As(III) était présent en très petite quantité dans du bois de construction. Dans ces études, l'arséniate (ou As(V)), forme la moins mobile et la moins toxique, est prédominant, mais n'est pas la seule espèce présente. En conséquence, la capacité de poteaux en bois traité à l'ACC à réduire l'arséniate en arsénite, si elle existe, semble limitée. La réduction a lieu principalement dans les sols et non dans le bois (cf. 2.5.1.1).

2.1.6 Produits de remplacement de l'ACC pour la préservation du bois

L'ACC ayant été supprimé pour le traitement du bois à usage résidentiel, de nouvelles études sont menées afin de comparer la toxicité de l'ACC-C à d'autres produits utilisés actuellement en remplacement (Stook *et al.*, 2005 ; Guo *et al.*, 2005). Les produits de

remplacement sont multiples, mais ont un point commun : ils ne contiennent pas d'arsenic. Il s'agit notamment de (Guo *et al.*, 2005 ; Stook *et al.*, 2005) :

- ♦ cuivre alcalin quaternaire ou ACQ (alkaline copper quaternary),
- ♦ azole de cuivre et de bore ou CBA (copper boron azole),
- ♦ acide de cuivre chromaté,
- ♦ borate de cuivre chromaté ou CCB (chromated copper borate).

L'ACQ est un mélange de cuivre et d'un composé d'ammonium quaternaire, le chlorure de didecyldiméthyl ammonium (DDAC), surfactant cationique utilisé en tant que désinfectant dans des produits commerciaux (composés anti-bactériens dans les produits chimiques de piscine, les shampooings, les produits d'entretien d'hôpital). La formulation de l'ACQ en tant qu'agent de préservation du bois est le type D : 66,6 % CuO et 33,3 % DDAC (Stook *et al.*, 2005).

Le CBA est un mélange de cuivre, d'acide borique (H_3BO_3) et de tebuconazole ($\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{ClN}_3\text{O}$). Le tebuconazole est usuellement utilisé en tant que fongicide pour la protection des vignes ou des légumes. La formulation du CBA pour le traitement du bois est le type B, contenant 49 % de cuivre, 49 % d'acide borique et 2 % de tebuconazole. Les borates ont en fait déjà démontré des propriétés de préservation du bois (Stook *et al.*, 2005).

L'acide de cuivre chromaté est une version sans arsenic de l'ACC, et contient 68,2 % CrO_3 et 31,8 % CuO. (Guo *et al.*, 2005).

Quant au CCB, autre produit similaire à l'ACC, mais sans arsenic, il est actuellement utilisé en Europe pour le traitement du bois à usage résidentiel, et contient : 40,5 % CrO_3 , 35,7 % CuO et 23,8 % H_3BO_3 (Guo *et al.*, 2005).

Tous ces produits ne contiennent pas d'arsenic mais le pourcentage de lixiviation du cuivre notamment est bien supérieur à celui de l'ACC-C, excepté pour l'acide de cuivre chromaté (Guo *et al.*, 2005 ; Stook *et al.*, 2005). En effet, le cuivre contenu dans l'ACQ et le CBA peut se lixivier jusqu'à huit fois plus que le cuivre ou l'arsenic contenus dans l'ACC-C (Stook *et al.*, 2005). La résistance à la lixiviation de l'ACC-C est donc en règle générale bien supérieure à celles de ses remplaçants actuellement sur le marché. Ceci s'expliquerait en partie à la présence d'arsenic qui catalyse la réaction de réduction du chrome, et à un pH assez faible (Guo *et al.*, 2005).

2.2 Critères génériques, évaluation de risques & exposition

2.2.1 Critères génériques

Afin de préserver l'environnement, la faune, la flore, mais aussi la santé humaine, une *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés* a été publiée par le Ministère de l'Environnement du Québec en 1999 (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a). Cette politique a été établie afin de favoriser la remise en état de terrains contaminés et leur réutilisation tout en protégeant les futurs usagers. C'est un outil destiné à contribuer au développement durable de la société québécoise. Le concept de développement durable stipule que l'utilisation actuelle des ressources et de l'environnement doit se faire sans en limiter la perspective d'utilisation par les générations futures (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a). A la suite de l'établissement de cette politique, une loi et son règlement ont été mis en place. Le projet de loi 72, c'est-à-dire la Loi modifiant la Loi sur la qualité de l'environnement et d'autres dispositions législatives relativement à la protection et à la réhabilitation des terrains, a modifié la section IV.2.1 de la Loi sur la Qualité de l'Environnement (LQE) et est entré en vigueur le 1^{er} mars 2003, alors que le

Règlement sur la protection et la réhabilitation des terrains est entré en vigueur le 27 mars 2003 (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002b).

Lorsqu'un terrain contaminé peut avoir un impact sur l'environnement ou constituer un risque significatif pour la santé humaine ou l'environnement, le propriétaire doit le réhabiliter, c'est-à-dire le décontaminer. C'est dans ce but que des critères génériques ont été définis selon le type d'utilisation du terrain contaminé. Ils sont utilisés pour évaluer le risque que constitue un terrain contaminé et pour établir les objectifs de décontamination à atteindre pour un usage donné. En effet, deux seuils de contamination ont été définis (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a) :

- ◆ critère A : teneur de fond (pour les substances inorganiques) ;
- ◆ critère B : limite maximale acceptable pour des terrains à vocation résidentielle, récréative (ex : terrains de jeux) et institutionnelle (hôpitaux, écoles, etc.). Sont également inclus les terrains à vocation commerciale situés dans un secteur résidentiel ;
- ◆ critère C : limite maximale acceptable pour des terrains à vocation commerciale, non situés dans un secteur résidentiel, et à usage industriel.

Tableau 2.2 : Critères génériques pour les sols (mg/kg sol sec)

Contaminant	A	B	C
As	6	30	50
Cr	85	250	800
Cu	40	100	500

(Source : Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a)

Les critères génériques sont généralement utilisés pour évaluer les impacts ou le risque que constitue un terrain. Ils ne prennent en compte que la teneur totale en contaminant dans le sol, et permettent de connaître l'ampleur d'une contamination ; ils ne tiennent

pas compte par exemple des effets co-contaminants, il n'y a donc pas de critère spécifique pour une contamination à l'ACC. Pour une telle contamination, il faut utiliser les critères établis pour l'arsenic, le chrome et le cuivre (Tableau 2.2).

Toutefois, l'évaluation du risque spécifique d'un site contaminé (à l'aide d'une procédure standardisée) et le recours à diverses mesures de gestion du risque est une option possible pour le gestionnaire d'un terrain contaminé, dans la mesure où la sécurité des futurs usagers et la protection de l'environnement sont garantis (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a). De plus, la loi 72 reconnaît comme mode de réhabilitation possible le maintien en place des contaminants présents dans un terrain contaminé, pourvu que certaines mesures de protection de l'environnement et des utilisateurs (actuels et futurs) du terrain soient prises (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002b).

2.2.2 Évaluation de risques

Grâce à la loi 72, le gestionnaire d'un site contaminé peut décider de ne pas faire une décontamination par rapport aux critères A, B ou C, mais de réaliser une évaluation de risques, afin de définir très précisément les objectifs de réhabilitation dudit site. Seules les entreprises de certains secteurs industriels ou commerciaux (désignés par règlement) ont des obligations de décontamination lorsqu'elles cessent leurs activités (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002b). Une évaluation de risques est une étude d'impacts sur l'environnement (faune et flore) et sur la santé humaine d'un ou plusieurs contaminants dans un milieu donné (Basta *et al.*, 2002 ; Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a).

Au Québec, une évaluation de risques comporte trois volets : une analyse de risques toxicologiques, une analyse du risque écotoxicologique, et une évaluation des impacts

sur l'eau souterraine et l'eau de surface. L'analyse de risques toxicologiques vise à identifier et quantifier les risques associés à l'exposition d'un individu ou d'une population cible à des contaminants présents dans différents milieux. L'évaluation du risque écotoxicologique doit permettre d'estimer les possibilités et les probabilités d'occurrence de réponses néfastes chez un récepteur écologique en fonction de son exposition à un ou plusieurs contaminants (Développement durable, environnement et parcs Québec, 2002a).

En règle générale, une évaluation des risques pour la santé humaine se fait en deux parties : un volet « toxicité », et un volet « exposition » (Basta *et al.*, 2002). Tout d'abord, la toxicité des contaminants est évaluée d'après les données les plus récentes et les plus pertinentes collectées quant aux effets sur la santé humaine (cancérigènes ou non) des polluants rencontrés sur le site contaminé. Ensuite, l'exposition aux contaminants est évaluée en quantifiant l'absorption des agents chimiques par un organisme. Le couplage de ces deux volets permet d'obtenir une caractérisation des risques pertinente à une contamination et à un site spécifiques.

Actuellement, l'évaluation de risques ne prend pas en compte la biodisponibilité des contaminants, mais plutôt la teneur totale du contaminant dans le sol, alors que plusieurs études ont déjà démontré l'intérêt de ce paramètre (Rodriguez *et al.*, 1999 ; Ruby *et al.*, 1999 ; Ellickson *et al.*, 2001 ; Basta *et al.*, 2002 ; Oomen *et al.*, 2002). L'utilisation de la concentration totale en contaminant dans un sol pour évaluer l'exposition au contaminant ne permet pas de connaître très précisément les risques réels encourus lors d'un contact avec un sol contaminé puisque ces risques sont surestimés.

2.2.3 Quantification de l'exposition

Afin d'estimer précisément l'exposition, certains chercheurs ont développé des équations d'exposition servant à quantifier la proportion de contaminant réellement absorbée à la suite d'une exposition à des sites contaminés. Ces équations ont été établies en tenant compte du scénario d'exposition (magnitude, fréquence, durée). Pour une ingestion accidentelle de sol contaminé, les formules suivantes peuvent être utilisées afin de quantifier la prise ou la dose de contaminant journalière :

- ♦ Basta *et al.* (2002) :

$$PJC_{ajustée} = \frac{CS \times TI \times FS \times FE \times DE}{MC \times TM} \times FC \times B \quad (2.1)$$

- ♦ Dubé *et al.* (2004) :

$$PJC = \frac{CS \times TI \times B \times FS \times FP \times FE \times DE}{MC \times TM} \times FC \quad (2.2)$$

- ♦ Hemond et Solo-Gabriele (2004) :

$$DJC = CS \times TI \times B \times FE \times FC \quad (2.3)$$

avec les abréviations :

PJC = prise journalière de contaminant ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{j}$) ;

DJC = dose journalière de contaminant ($\mu\text{g}/\text{j}$) ;

CS = concentration de contaminant dans le sol < 2 mm (mg/kg) ;

TI = taux d'ingestion de sol (mg/j) ;

B = biodisponibilité relative (%) ;

FE = fréquence d'exposition (j/an , ou sans unité pour la dernière équation) ;

DE = durée d'exposition (an) ;

MC = masse corporelle (kg)

TM = temps moyen (j) ;

FC = facteur de conversion d'unités ;

FS = fraction de source ;

FP = fraction de prise.

La concentration de contaminant dans le sol ainsi que la biodisponibilité sont des valeurs spécifiques à chaque site étudié. Pour les autres paramètres, ils sont fonction du scénario d'exposition. En effet, l'ingestion accidentelle de sol n'est pas la seule voie d'exposition possible à des sols contaminés étudiée. D'autres équations ont été développées, en cas d'absorption dermique par exemple, d'inhalation, ou d'ingestion directe d'ACC (si l'enfant touche directement le bois traité avec ses mains et les porte à sa bouche) (Dubé *et al.*, 2004 ; Hemond et Solo-Gabriele, 2004). En règle générale, l'ingestion de sol contaminé se produit lorsqu'un enfant joue sur une structure récréative en bois traité, et non au pied de poteaux industriels. Malgré le fait que certains poteaux industriels traités à l'ACC soient installés chez des particuliers, les enfants ne sont normalement qu'en contact très occasionnel avec ces poteaux. De ce fait, les paramètres d'exposition pour l'ingestion de sol sont généralement déterminés pour des enfants jouant dans des structures récréatives.

2.2.3.1 Biodisponibilité

La biodisponibilité peut être évaluée par différentes méthodes, in vivo ou in vitro. Pour estimer la biodisponibilité orale in vivo, deux équations sont proposées (Rodriguez *et al.*, 1999, 2003 ; Schroder *et al.*, 2004) :

- ♦ la biodisponibilité absolue :

$$ABA = \frac{\text{Dose} \cdot \text{absorbée}}{\text{Dose} \cdot \text{ingérée}} \quad (2.4)$$

c'est-à-dire la dose de contaminant administrée divisée par la dose de contaminant retrouvée dans le système GI ;

- ♦ la biodisponibilité relative :

$$RBA = \frac{ABA \text{ sol} \cdot \text{étudié}}{ABA \cdot \text{matériel} \cdot \text{référence}} \quad (2.5)$$

pour mesurer l'arsenic biodisponible, le matériel de référence utilisé est de l'arséniate de sodium ($\text{Na}_2\text{AsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), une forme soluble d'arséniate qui est biodisponible à pratiquement 100 %.

La biodisponibilité absolue étant très difficile à déterminer, on mesure en fait la biodisponibilité relative, en l'approximant grâce à la fraction d'excrétion urinaire (UEF), la fraction d'excrétion par les selles, la concentration en contaminant dans le sang, ou encore la concentration en contaminant dans les tissus (Kelley *et al.*, 2002), selon la méthode mise en place et le contaminant à évaluer.

Cependant, la détermination de la biodisponibilité *in vivo* est relativement longue et coûteuse à mettre en place ; des méthodes de détermination *in vitro* ont donc été développées, et peuvent être utilisées pour évaluer le facteur B dans les équations 2.1, 2.2 et 2.3. Ces méthodes *in vitro* permettent en fait de déterminer la bioaccessibilité du contaminant. Toutefois, pour être utilisable, il faut qu'une méthode *in vitro* ait été validée, c'est-à-dire que la bioaccessibilité *in vitro* et la biodisponibilité *in vivo* soient corrélées, ce qui n'est pas le cas pour toutes les méthodes développées à ce jour. Or la méthode retenue pour cette étude (la méthode IVG) est équivalente à la RBA pour l'arsenic : elle a déjà été validée par des tests *in vivo* menés sur des porcelets (Rodriguez *et al.*, 1999 ; Basta *et al.*, 2001, 2002).

Pour calculer la bioaccessibilité des métaux, on utilise les formules suivantes :

$$\% \text{ métal bioacc. gastrique} = \frac{\text{Métal soluble } \phi \text{ gastrique (mg/kg)}}{\text{Métal total dans le sol (mg/kg)}} \times 100 \quad (2.6)$$

$$\% \text{ métal bioacc. intestinal} = \frac{\text{Métal soluble } \phi \text{ intestinal e (mg/kg)}}{\text{Métal total dans le sol (mg/kg)}} \times 100 \quad (2.7)$$

2.2.3.2 Taux d'ingestion de sol

Plusieurs recherches ont été menées pour estimer la quantité totale de sol qu'un enfant peut ingérer par jour. Plusieurs valeurs sont ainsi disponibles dans la littérature. Calabrese *et al.* (1989) ont trouvé qu'un enfant entre 1 et 4 ans pouvait manger de 5 à 8 g de sol par jour, alors que l'ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) estime le taux d'ingestion entre 1 et 5 g/j pour un enfant normal, et jusqu'à 61 g/j pour un enfant handicapé (ATSDR, 2001). Hemond et Solo-Gabriele (2004) ont rapporté des valeurs d'ingestion de sol s'échelonnant de 9 mg à quelques grammes par jour. D'autres études récentes s'entendent sur une valeur conservatrice de 100 mg/j pour un enfant de moins de 6 ans (Kissel *et al.*, 1998 ; Dubé *et al.*, 2004). L'USEPA recommande quant à elle, pour une évaluation des risques, une moyenne quotidienne d'ingestion de sol de 50 mg pour un enfant de 2 ½ ans (USEPA, 1997).

Afin de ne pas sous-estimer l'exposition à l'arsenic, au chrome et au cuivre, une valeur conservatrice de 100 mg/j a été utilisée dans les calculs.

2.2.3.3 Fréquence & durée d'exposition

La fréquence d'exposition représente le nombre de jours par année pendant lesquels l'enfant est en contact avec du bois traité à l'ACC. Plusieurs valeurs sont disponibles dans la littérature. Ursitti *et al.* (2004) ont reporté que les jeunes enfants étaient en contact régulier avec du bois traité à l'arsenic pendant environ 130 jours par an. Dubé *et al.* (2004) estiment que les enfants (entre 2 et 12 ans) passent 5 jours par semaine à jouer sur des structures récréatives en bois traité, et ce toute l'année, ce qui fait un total de 260 j/an. Hemond et Solo-Gabriele (2004) ont choisi une valeur intermédiaire : un jour sur deux, soit 182,5 j/an, qui est la valeur retenue pour cette étude (FE = 0,5), bien qu'elle reste élevée pour son scénario d'exposition (enfant jouant près d'un poteau).

Lorsque l'on cherche à quantifier la prise journalière de contaminant (et non une dose), on tient compte de paramètres supplémentaires, tels que la durée d'exposition ou le

temps moyen d'exposition (comme dans les deux premières équations). La durée d'exposition permet de définir les différentes périodes d'exposition : selon l'âge, le contact avec des sols contaminés diffère. En effet, un enfant entre 2 et 6 ans a un comportement de jeu différent d'un enfant de 7 à 12 ans. Et à l'âge adulte, il existe toujours un contact avec les sols contaminés, lorsqu'on accompagne ses enfants aux aires de jeu en bois par exemple. Ainsi, si l'on quantifie l'exposition à un sol contaminé d'un enfant de 2 à 6 ans, la durée d'exposition est de 5 ans. Pour les enfants de 7 à 12, la durée d'exposition passe à 6 ans (Dubé *et al.*, 2004).

2.2.3.4 Temps moyen

Le temps moyen d'exposition est la période sur laquelle est évaluée l'exposition. Il dépend de la manière de caractériser le risque sur la santé humaine : cancérigène ou non cancérigène. Si l'on veut connaître les risques de cancer, l'estimation de la prise d'agent chimique ingérée quotidiennement doit être faite sur toute la durée d'une vie, soit ~ 70 ans (25 550 jours). En revanche, si l'on souhaite évaluer les risques non cancérigènes sur la santé, le temps moyen utilisé est calculé en fonction des intervalles d'âges selon le type de contact avec un sol contaminé, ce qui correspond en fait à la durée d'exposition, soit $TM = 1\,825\text{ j}$ (5 ans) pour un enfant de 2 à 6 ans, ou $TM = 2\,190\text{ j}$ (6 ans) pour un enfant entre 7 et 12 ans. Dans ce cas, les deux paramètres se simplifient dans l'équation.

2.2.3.5 Masse corporelle

Les deux premières équations tiennent compte du poids de la personne exposée. Ceci est plus pertinent, car la toxicité d'un contaminant ne sera pas la même d'une personne à une autre, mais variera avec son poids. Les niveaux de risques des contaminants sont d'ailleurs définis (en règle générale) en $\mu\text{g/kg/j}$.

Pour un enfant de 2 à 6 ans, fille ou garçon, l'USEPA recommande un poids de 17,8 kg (USEPA, 1997 ; Dubé *et al.*, 2004). Pour un enfant de 7 à 12, le poids augmente à 34,5 kg, fille ou garçon (USEPA, 1997 ; Dubé *et al.*, 2004).

2.2.3.6 Fractions de prise & de source

La fraction de prise représente la fraction de chaque jour pendant laquelle un individu peut être exposé à du sol contaminé. Pour l'évaluer, il est supposé que l'exposition ne peut avoir lieu que pendant les heures passées éveillée, durant le jour (soit 12 h/j). Et d'après Dubé *et al.* (2004), un enfant entre 2 et 6 ans passe 2,9 h/j sur une structure de jeu en bois. La fraction de prise est alors calculée comme le rapport du nombre d'heures passées à jouer sur le nombre d'heures passées dehors, réveillée, c'est-à-dire $2,9 / 12 = 0,24$. Pour des enfants de 7 à 12 ans, le temps de jeu est estimé à 2,8 h/j, ce qui donne une fraction de prise de 0,23 (Dubé *et al.*, 2004). Cette valeur est très conservatrice, car les enfants plus âgés restent éveillés plus longtemps par jour que les enfants plus jeunes, et jouent moins longtemps.

La fraction de source représente la fraction de sol contaminé à laquelle une personne peut être exposée. Lorsqu'une personne est exposée à du sol contaminé par l'ACC, sachant que de précédentes études ont montré que la contamination restait très proche du poteau (ou de la pièce) en bois traité (Cooper *et al.*, 1997 ; Stilwell et Gorny, 1997 ; Chirenje *et al.*, 2003 ; Zagury *et al.*, 2003a), tout le sol qu'elle ingère n'est pas nécessairement contaminé. C'est ce phénomène que la fraction de source permet de prendre en compte. Dans le cas d'ingestion accidentelle de sol contaminé près de structures de jeux en bois traité, la fraction de source est prise égale à 100 %, car la détermination de la concentration en contaminant sous la structure prend déjà en compte l'inhomogénéité des concentrations dans les sols de surface sous la structure en bois (Dubé *et al.*, 2004).

2.2.3.7 Equation d'exposition utilisée

Les équations d'exposition détaillées ci-avant ont été développées pour un scénario d'ingestion de sol contaminé près des aires de jeux en bois traité. Elles ne peuvent pas être appliquées telles quelles pour tout autre scénario d'exposition. Pour estimer la prise journalière d'arsenic, de chrome et de cuivre dans un scénario d'ingestion de sol au pied d'un poteau traité à l'ACC (dans le cadre de cette étude), les équations précédentes ont donc dû être modifiées :

$$PJC = \frac{CS \times TI \times FE \times B}{MC} \times FC \quad (2.8)$$

Il ne faut cependant pas oublier qu'une exposition à des sols contaminés par des poteaux en bois traités à l'ACC reste occasionnelle. Les valeurs obtenues avec cette équation ne donneront donc qu'un ordre de grandeur de l'exposition. En effet, même si une revue de littérature a été faite pour l'analyse de risque, une étude d'exposition spécifique pour ce scénario n'a pas été réalisée.

2.2.4 Niveaux d'exposition recommandés

L'ATSDR, conjointement avec l'USEPA, détermine régulièrement des niveaux minimaux de risque (MRL : Minimal Risk Level) pour tous les contaminants répertoriés, selon les différentes voies d'exposition possibles (orale ou par inhalation). Un MRL est une estimation de l'exposition journalière à un contaminant qui ne provoquerait pas d'effet défavorable ou cancérigène sur la santé humaine pendant une durée d'exposition spécifique (aiguë, intermédiaire ou chronique) (ATSDR, 2004). Ces valeurs n'ont aucun rapport avec des critères de décontamination de sols.

Les MRL dépendent du contaminant, mais aussi du type d'exposition. L'ATSDR utilise une approche de « niveau sans effet défavorable observé » pour établir les MRL, et ne prend pas en compte les « effets sérieux » (par exemple, des dommages

irréparables sur le foie ou les reins, des malformations à la naissance). Une exposition à un niveau supérieur au MRL ne signifie pas que des effets défavorables ou irréversibles sur la santé vont se produire (ATSDR, 2004). Les MRL sont définis en tant que niveaux de risque non cancérigène.

De plus, les MRL peuvent être utilisés afin de déterminer si un site contaminé représente un danger réel pour la santé humaine en calculant préalablement la prise journalière d'agent chimique (en $\mu\text{g/kg/j}$), et en la comparant aux valeurs des MRL. Pour un sol contaminé à l'ACC, les MRL présentés au Tableau 2.3 seront utilisés dans un but de comparaison.

Les MRLs sont établis pour une exposition (ATSDR, 2004) :

- ♦ aiguë : de 1 à 14 jours ;
- ♦ intermédiaire : de 14 à 364 jours ;
- ♦ chronique : 365 jours (1 an) et plus.

Tableau 2.3 : MRLs pour l'arsenic et le cuivre par voie d'exposition orale
(en $\mu\text{g/kg/j}$)

Contaminant	Exposition	MRL
As	Aiguë	5
	Chronique	0,3
Cu	Aiguë	10
	Intermédiaire	10

(Source : ATSDR, 2004)

Pour le chrome, il n'existe pas de MRL pour la voie d'exposition orale. Seule l'inhalation de chrome hexavalent est réglementée.

2.3 La bioaccessibilité

2.3.1 Différentes méthodes de détermination

Il n'existe pas qu'une seule méthode de détermination de la biodisponibilité *in vitro*. En effet, différentes techniques ont été mises au point, et notamment, des techniques de détermination par simulation des biofluides (salive, fluide gastrique, fluide intestinal), par simulation mathématique (modèles pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques, utilisant des paramètres mathématiques pour la prise de substances chimiques), ou encore par technologies d'ADN recombiné (Caussy, 2003).

Pour les méthodes par simulation des biofluides, beaucoup de laboratoires ont mis en place des protocoles *in vitro* permettant d'estimer de manière juste et précise la biodisponibilité relative *in vivo* ; il n'existe pas de méthode standard permettant d'estimer la bioaccessibilité, comme pour la détermination de la concentration totale de métal dans un sol par exemple. Tous ces protocoles ont des *modus operandi* différents, il n'est pas toujours facile de les comparer, comme cela a déjà été tenté (Basta *et al.*, 2001 ; Oomen *et al.*, 2002).

A l'heure actuelle, les seules publications corrélant des méthodes d'estimation de la biodisponibilité *in vitro* et *in vivo* sont principalement sur l'arsenic et le plomb, et sur le cadmium. Il n'en existe pas pour le chrome ou le nickel (autres éléments les plus étudiés en tant que contaminants inorganiques des sols) (Kelley *et al.*, 2002 ; Schroder *et al.*, 2003). De plus, tous les contaminants ne répondent pas de la même façon à un test *in vitro* : si une incubation par phase gastrique (i.e. sous conditions acides) est suffisante pour la mesure de la bioaccessibilité de l'arsenic, du cadmium, du nickel et du plomb contenus dans des sols, ce n'est pas le cas pour le chrome et mercure, dont la bioaccessibilité est mieux évaluée en utilisant une incubation séquentielle phase gastrique – phase intestinale (Kelley *et al.*, 2002).

Pour les modèles de détermination de la bioaccessibilité par simulation des biofluides, il existe actuellement trois grandes catégories (Oomen *et al.*, 2002) :

- ♦ les modèles gastriques statiques, qui simulent seulement l'estomac, sous conditions acides, avec agitation, à 37°C (ex. : le test par simulation du suc gastrique (GJST), développé par Mercier *et al.* (2002a, b)). Ce sont les plus simples ;
- ♦ les modèles gastro-intestinaux statiques, dont deux modèles plus connus font partie (la méthode IVG et le PBET). Ils modélisent le système digestif humain à l'aide de plusieurs fluides artificiels, un jus gastrique et un jus intestinal en général, avec agitation et à 37°C. La salive est aussi parfois simulée ;
- ♦ les modèles gastro-intestinaux dynamiques, mimant le transit graduel des composés ingérés tout au long du système digestif humain, depuis la salive jusqu'aux intestins, à 37°C, et avec mouvements péristaltiques (c'est-à-dire les mouvements de contractions successives de l'estomac et de l'intestin).

Si des modèles plus complexes permettent de simuler plus d'aspects de la physiologie humaine, les modèles « simples » ont l'avantage d'être plus faciles à mettre en œuvre (Oomen *et al.*, 2002), et peuvent être suffisants pour la mesure de la bioaccessibilité.

2.3.2 IVG vs PBET

Ces deux méthodes d'évaluation de la bioaccessibilité des contaminants dans les sols sont gastro-intestinales et statiques, avec des modes opératoires assez proches. Toutes deux comportent deux phases : une gastrique, à pH acide avec pepsine, et une intestinale à pH plus élevé avec ajout de bile et de pancréatine (Ruby *et al.*, 1996 ; Rodriguez *et al.*, 1999). Ces deux méthodes ont été validées pour l'arsenic avec des

tests *in vivo* menés en parallèle sur des singes et des lapins pour le PBET (Ruby *et al.*, 1996), et sur des porcelets pour la méthode IVG (Rodriguez *et al.*, 1999). En revanche, aucune des deux n'a été validée pour le chrome ou le cuivre.

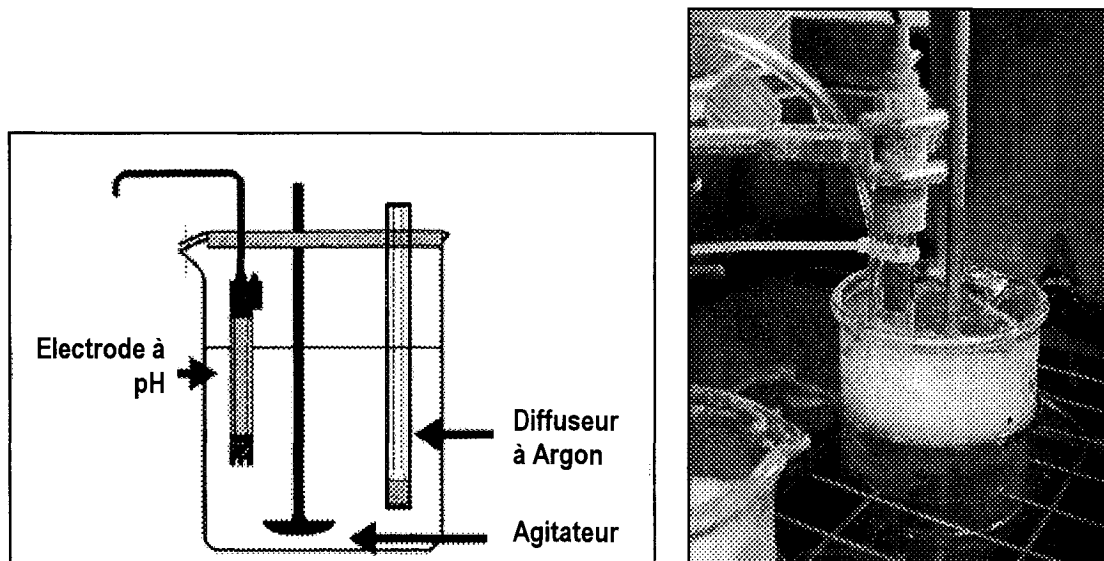


Figure 2.2 : Schéma du design expérimental de la méthode IVG & photographie
(Adapté de Rodriguez *et al.*, 1999)

Le principe est exactement le même pour ces deux méthodes, mais les protocoles opératoires diffèrent quelque peu (Figure 2.2 et Figure 2.3). Les principales différences sont :

- ◆ la forme du réacteur : béchers pour l'IVG, ampoules pour le PBET ;
- ◆ le ratio solide:liquide au début de l'expérimentation : 1:150 pour l'IVG, 1:400 pour le PBET ;
- ◆ le pH gastrique : 1,8 pour l'IVG, entre 1,3 et 2,5 pour le PBET ;
- ◆ le ratio solide:liquide au début de la phase intestinale : 1:140 pour l'IVG, 1:400 pour le PBET. En effet, dans cette dernière, après l'échantillonnage de la phase gastrique (pour analyse), de la solution gastrique « neuve » est rajoutée ;
- ◆ le pH intestinal : 5,5 pour l'IVG, 7,0 pour le PBET.

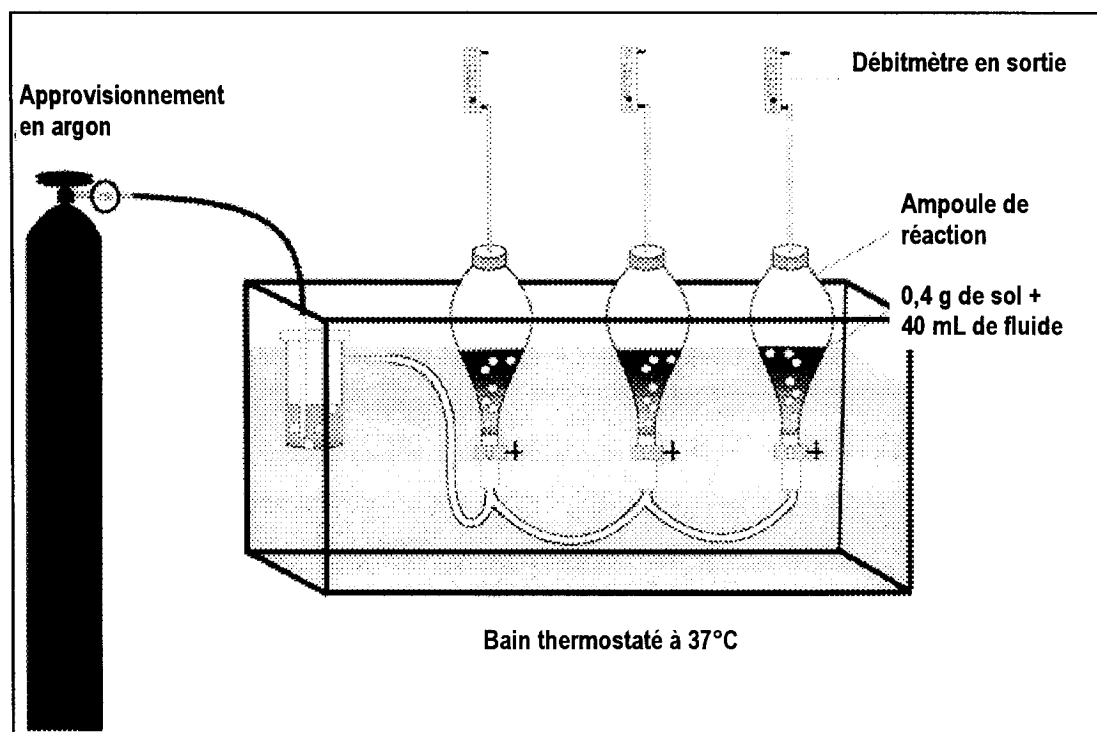


Figure 2.3 : Schéma du design expérimental du PBET
(Adapté de Ruby *et al.*, 1996)

Cependant, ces différences n'ont pas toujours une très grande importance. Par exemple, pour les différences de pH gastriques, Ruby *et al.* (1996) expliquent que pour un enfant, selon le taux de nourriture dans l'estomac, le pH peut varier de 1,3 (estomac vide) à 4,0 (estomac nourri). Pour un état « moyen » (entre les états à jeun et nourri), un pH de 2,5 a été choisi. Rodriguez *et al.* (1999) ne tiennent pas compte de ce facteur, et considèrent l'estomac vide, sans ingestion de nourriture : les enfants ont tendance à avaler du sol contaminé en dehors des repas, lorsque le pH de l'estomac est le plus faible (Basta *et al.*, 2002). De plus, pour l'arsenic, il a été prouvé que la bioaccessibilité de l'As(V) (forme prépondérante dans les sols contaminés à l'ACC) était relativement indépendante des pH gastrique et intestinal, et ce sur un intervalle de pH allant de 2 à 7 (Yang *et al.*, 2003). Pour l'autre plus grosse différence (ratios solide:liquide), de précédentes études concernant l'arsenic ont montré que lorsque le ratio solide:liquide diminuait de 1:100 à 1:5 000, la bioaccessibilité avait tendance à augmenter

légèrement, ou restait relativement constante, selon le type de sol testé (Hamel *et al.*, 1998 ; Yang *et al.*, 2003). Les différences entre ces deux méthodes semblent donc être assez minimes.

Le PBET semble autant utilisé (Ruby *et al.*, 1996 ; Williams *et al.*, 1998 ; Stewart *et al.*, 2003a, 2003b ; Yang *et al.*, 2003, 2005 ; Fendorf *et al.*, 2004) que la méthode IVG (Rodriguez *et al.*, 1999 ; Basta *et al.*, 2001, 2002 ; Sarkar et Datta, 2004 ; Schroder *et al.*, 2003, 2004). Cependant, il a été montré que seule la méthode IVG est équivalente pour tous les types de sols testés (sols miniers, sols de fonderies, scories de fer, sols résidentiels principalement) à la méthode de détermination de la biodisponibilité relative *in vivo* pratiquée sur des porcelets (Basta *et al.*, 2001). La corrélation entre arsenic bioaccessible et arsenic biodisponible est plus élevée avec la méthode IVG qu'avec le PBET. De plus, le PBET sous-estime parfois l'arsenic biodisponible déterminé *in vivo* (Basta *et al.*, 2001), et le système digestif d'un enfant est plus proche du système digestif d'un bébé cochon (sur lequel a été testée la méthode IVG) que de celui d'un singe ou d'un lapin (sur lesquels a été testé le PBET) (Basta *et al.*, 2002). Ainsi, même si la bioaccessibilité de l'arsenic déterminée *in vitro* par le PBET est très bien corrélée à la biodisponibilité relative de l'arsenic *in vivo*, les résultats obtenus *in vitro* par la méthode IVG semblent plus proches des résultats obtenus *in vivo*, et ce pour tout type de sol (Basta *et al.*, 2002).

2.4 Le chrome et le cuivre

Le chrome est très abondant dans la croûte terrestre. Il est en effet plus abondant que le cobalt, le cuivre, le zinc ou le nickel. De plus, le chrome n'existe pas uniquement dans la croûte terrestre : les chondrites, les météorites les plus courantes, en contiennent environ 3 000 mg/kg. On en retrouve aussi dans l'eau de mer (à des concentrations plus faibles que sur terre) (NRC [E-U], 1974). Cependant, le chrome peut provenir de

sources anthropogéniques, ce qui l'introduit généralement sous forme soluble dans l'environnement (Kelley *et al.*, 2002).

Le chrome est aussi un élément essentiel, d'importance biologique : on en trouve dans tous les organismes, végétaux, animaux et humains. Si de grandes quantités de chrome sont toxiques, en ajouter aux sols qui en sont déficients peut augmenter la croissance végétale (NRC, 1974). La déficience d'un sol est définie comme la condition du sol qui résulte d'une prise de chrome insuffisante par les plantes qui grandissent dessus, et non comme une concentration totale en chrome sous une limite arbitraire (NRC, 1974).

Le cuivre est un élément naturel présent partout sur Terre, aussi bien dans les sols que dans les eaux. Il est très utilisé en agriculture par exemple en tant qu'élément essentiel (pour les grandes plantes ou les animaux) ou, à plus forte concentration, en tant que fongicide ou algicide. Tout comme le chrome, le cuivre est essentiel aux fonctions métaboliques des hommes (Joseph, 1999).

2.4.1 Le chrome dans l'environnement

2.4.1.1 Le chrome dans les sols

La concentration de chrome dans la croûte terrestre varie de l'état de traces à 1 100 ppm, avec une valeur moyenne mondiale de 54 ppm pour les sols de surface. Plus particulièrement, dans les sols américains et canadiens, la concentration moyenne de chrome est 50 mg/kg (Kabata-Pendias, 2001).

Les états d'oxydation du chrome s'échelonnent de +2 à +6, mais les plus communs sont les chromes +3 (chromique) et +6 (chromate). Le chrome élémentaire n'est pas présent dans la nature, et le chrome divalent est relativement instable, il est rapidement oxydé en forme trivalente. (NRC, 1974 ; Kabata-Pendias, 2001). La plupart du Cr(III)

est présent sous forme de chromite (FeCr_2O_4), seul minéral commercial important mais rarement trouvé sous sa forme pure (NRC, 1974 ; Kabata-Pendias, 2001). Cependant, sous oxydation progressive, le chrome peut former l'ion chromate (CrO_4^{2-}), très mobile et facilement sorbé aux argiles et aux oxydes hydreux, mais aussi très instable dans les sols (Kabata-Pendias, 2001). De plus, au contact d'un environnement « naturel », les différentes formes du chrome auront tendance à se transformer en oxydes trivalents (Barnhart, 1997).

Les formes trivalentes sont les formes les moins mobiles et les moins réactives, donc les moins toxiques (Barnhart, 1997 ; Kabata-Pendias, 2001). Le Cr(III) se lie fortement aux solides du sol (Fendorf *et al.*, 2004) et sa solubilité est minime. Le chrome hexavalent est plus toxique. Il est en effet hautement mobile et hautement soluble (Kelley *et al.*, 2002).

Le comportement du chrome dans les sols est principalement gouverné par le pH et le potentiel redox du sol (Kabata-Pendias, 2001). Le chrome a un comportement anionique, son adsorption diminuant quand le pH augmente ou quand d'autres anions (compétiteurs) sont présents (Balasoiu *et al.*, 2001), tels que les arsénates par exemple. Cependant, ce ne sont pas les seuls paramètres physico-chimiques à affecter sa sorption. En effet, le comportement du chrome peut être modifié par des complexes de chrome organiques. Le principal effet de la matière organique est la stimulation de la réduction de Cr(VI) en Cr(III) (Kabata-Pendias, 2001).

2.4.1.2 Le chrome en solution

En solution, les seuls ions de chrome importants sont les chromates (HCrO_4^- , CrO_4^{2-}) et les dichromates ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) (McLean et Bledsoe, 1992), qui sont très facilement réduits en chrome trivalent en solution acide et en présence de matière organique. L'ion chromique (III) libre n'existe cependant pas en solution : il forme des complexes avec l'eau et d'autres anions. L'état trivalent est le plus stable et le plus important état

d'oxydation du chrome, et dans cet état, il a une forte tendance à former des complexes (NRC, 1974).

Le chrome hexavalent semble relativement stable dans l'eau, probablement à cause des faibles concentrations de matériaux réducteurs. La forme trivalente est associée principalement avec la matière particulaire, laissant la forme hexavalente en solution (NRC, 1974). En effet, à cause de sa nature anionique et de son inhabilité à former des complexes chimiques forts avec la plupart des matériaux dans le sol, les chromates sont hautement solubles (et mobiles) dans l'environnement de surface (Fendorf *et al.*, 2004).

De manière générale, les trois caractéristiques chimiques fondamentales du chrome, pour comprendre son comportement dans l'environnement et son rôle dans la santé humaine, peuvent être résumées de la manière suivante (Barnhart, 1997) :

- ◆ la forme dominante de chrome dans la nature est l'oxyde trivalent ;
- ◆ les autres formes auront tendance à être converties en oxyde trivalent lorsqu'elles seront en contact avec l'environnement naturel ;
- ◆ même dans des environnements thermodynamiquement instables, le chrome trivalent est très lent à réagir (et à être oxydé).

2.4.2 Le chrome dans l'organisme

Le chrome trivalent est connu en tant qu'élément essentiel au bon fonctionnement de l'organisme (Witmer *et al.*, 1991 ; Kabata-Pendias, 2001). Il est actif à très petite concentration, et intervient dans beaucoup de matériels biologiques : il est fortement associé avec les protéines, les acides nucléiques, et une variété de ligands à poids moléculaire faible. Sa concentration s'échelonne de quelques $\mu\text{g/kg}$ dans le sang, à plus de 1 g/kg dans certaines fractions du foie. Toutefois, des concentrations excessives

de chrome (quelques g/kg) sont toxiques pour les systèmes d'enzymes et de bactéries (NRC, 1974).

En cas d'ingestion, le chrome hexavalent sera réduit par la salive et dans le jus gastrique (Witmer *et al.*, 1991), notamment en raison de leur acidité. Cependant, dans le corps humain, le Cr(VI) est toxique à cause de son potentiel oxydant et sa pénétration facile des membranes biologiques (NRC, 1974). C'est un élément cancérigène (Fendorf *et al.*, 2004), il peut en effet causer des cancers des systèmes respiratoires (Witmer *et al.*, 1991). De plus, le chrome trivalent résultant de cette réduction est peu absorbé à travers le mur intestinal, où l'absorption sera très lente (Witmer *et al.*, 1991).

Cependant, une fois absorbé, le chrome trivalent est rejeté relativement rapidement du sang, mais plus lentement des tissus (Kelley *et al.*, 2002). En fait, le temps de demi-vie du chrome chez l'homme est estimé à 30 jours environ (Witmer *et al.*, 1991). La plupart du chrome absorbé est excrété via les urines (Kelley *et al.*, 2002). De plus, lors d'une précédente étude sur des rats, le chrome a été mesuré dans le sang, le foie, les reins, la rate, les poumons, les os, les testicules et les muscles, et la distribution relative du chrome entre tous les organes (principalement le sang, le foie et les reins) varie avec la forme de chrome et le type d'exposition (i.e. orale ou intraveineuse) (Witmer *et al.*, 1991 ; Kelley *et al.*, 2002).

2.4.3 Le cuivre dans l'environnement

2.4.3.1 Le cuivre dans les sols

Le cuivre est un élément naturel avec une concentration moyenne dans la croûte terrestre de 50 ppm (Joseph, 1999). Plus particulièrement, la concentration moyenne de cuivre dans les sols de surface est de 22 ppm (5-50 ppm) au Canada et de 26 ppm (3-

300 ppm) aux Etats-Unis (Kabata-Pendias, 2001). C'est l'un des rares éléments chimiques qui se trouve minéralogiquement dans sa forme élémentaire de cuivre métallique dans l'environnement, et tous les sols en contiennent. On en trouve dans au moins 160 minéraux, sous deux états d'oxydation : cuivreux (+1) et cuivrique (+2) (Joseph, 1999). Toutefois, dans les sols, le cuivre est principalement sous forme divalente (Nriagu, 1979 ; Kabata-Pendias, 2001). De plus, il a tendance à être concentré dans les dépôts sulfureux (Joseph, 1999).

Le cuivre est aussi présent dans les eaux : entre 1 et 15 ppb dans l'eau de mer (moyenne : 3 ppb), et entre 0,4 et 150 ppb dans l'eau douce (moyenne : 5 ppb) (Joseph, 1999).

Le cuivre dans les sols est le résultat de l'ajout de métal par trois différentes sources (Joseph, 1999) :

- ◆ minérale, dans le matériel parent (roche ancienne, végétation décennale),
- ◆ anthropogénique, tels qu'additifs chimiques ou fongicides,
- ◆ atmosphérique, sous forme de dépôts (cendres volcaniques, fumées de mines ou municipales).

Ainsi, le cuivre est concentré dans les horizons de surface en tant que résultat du cycle à travers la végétation, la déposition atmosphérique, et l'adsorption par les sols organiques (Joseph, 1999 ; Kabata-Pendias, 2001).

Le cuivre montre une grande habilité à interagir chimiquement avec les composés minéraux ou organiques du sol. Les cations de cuivre peuvent aussi précipiter facilement avec de nombreux types d'anions, tels que les sulfures, les carbonates, ou les hydroxydes. En conséquence, le cuivre est un élément plutôt immobile dans les sols (Kabata-Pendias, 2001). Le cuivre adsorbé se retrouve surtout sur les oxydes de fer (Fe) et de manganèse (Mn), les hydroxydes amorphes de fer et d'aluminium et les argiles.

La chélation (i.e. processus physico-chimique conduisant à la formation d'un complexe entre un ion métallique positif et une substance organique) et la complexation (i.e. formation de complexes d'ions métalliques) sont les réactions clés gouvernant le comportement du cuivre dans la plupart des sols. L'habilité des constituants organiques du sol à se lier avec le cuivre est aussi bien connue, et enfin, la sorption du cuivre dans les sols dépend grandement du pH du sol (Kabata-Pendias, 2001).

2.4.3.2 Le cuivre dans les plantes

Le cuivre est un élément essentiel pour la vie des plantes et la production agricole. Le cuivre est en effet un micronutriment pour les plantes et les animaux (et aussi les hommes). Des concentrations trop fortes ou trop faibles peuvent toutes deux conduire à la mort pour beaucoup d'espèces.

Ainsi, dans l'agriculture, le cuivre est aussi bien utilisé en tant qu'élément essentiel qu'en tant que toxine (pour le contrôle des champignons et des maladies), et ce pour les animaux comme pour les plantes. Par exemple, lorsqu'il n'y en a pas assez dans un sol, le manque de cuivre disponible pour les plantes ou les animaux peut empêcher une récolte saine ou l'élevage de bétail. Dans un tel cas, le cuivre doit être ajouté en tant que complément dans le sol. Il est aussi utile pour le traitement de l'eau, en tant qu'algicide, enlevant odeur et goût à l'eau potable (Joseph, 1999).

2.4.4 Le cuivre dans l'organisme

La quantité totale de cuivre dans le corps humain est estimée à 50 à 120 mg pour les adultes, et à 14 mg pour un nouveau-né (à terme). Généralement, le cuivre est lié aux protéines ou à d'autres composés organiques. Le foie joue un rôle central dans le

métabolisme du cuivre qui est principalement absorbé par le système GI, via l'estomac et le petit intestin (Joseph, 1999).

Une prise journalière régulière de 2 à 5 mg pour un adulte est considérée comme normale, et ne causant pas d'effet dangereux. Cependant, à fortes doses, le cuivre est toxique pour l'organisme ; des dosages de 32 mg peuvent avoir un effet astringent (i.e. qui resserre les tissus vivants) et causer la nausée, et des dosages de 80 à 132 mg peuvent faire vomir (effet émétique du cuivre) (Joseph, 1999).

2.5 L'arsenic

2.5.1 L'arsenic dans les sols

L'être humain peut être exposé à l'arsenic via l'air, l'eau, la nourriture ou les sols. Dans l'air, la concentration d'arsenic avoisine $0,02 \mu\text{g}/\text{m}^3$, alors que dans les sols, la teneur en arsenic varie entre 0,2 et 40 mg/kg (Smith *et al.*, 1998 ; Caussy, 2003), avec une concentration moyenne dans les sols de surface canadiens de 5,8 mg/kg (Kabata-Pendias, 2001).

2.5.1.1 Spéciation de l'arsenic dans les sols

La toxicité de l'arsenic dans l'environnement dépend grandement de sa spéciation. En effet, la spéciation va contrôler la solubilisation, la mobilisation et la biodisponibilité de l'arsenic dans le sol.

L'arsenic peut se combiner aussi bien avec des éléments métalliques que des éléments non métalliques, et former ainsi des composés inorganiques ou organiques. Selon les environnements géologiques, l'arsenic existe sous quatre états d'oxydation, -3, 0, +3 et +5, mais en environnement, seuls les états d'oxydation +3 et +5 ont un intérêt (Kabata-Pendias, 2001 ; Caussy, 2003). De plus, l'arsenic élémentaire (As(0)) ne se trouve que

très rarement libre dans l'eau naturelle (Caussy, 2003). Au moins une vingtaine de composés à base d'arsenic ont été identifiés, et divisés en deux groupes principaux, les composés inorganiques et les composés organiques (Smith *et al.*, 1998). Tous n'ont pas les mêmes propriétés, la même toxicité, et ils ne représentent pas tous un réel danger pour la santé humaine. Les formes chimiques d'arsenic susceptibles d'être rencontrées dans des sols contaminés sont les suivantes (Dobran, 2004) :

- ♦ inorganiques : arséniate, As(V) ; arsénite, As(III) ; arsine volatile, AsH₃ ;
- ♦ organiques méthylées : acide d'arsenic (V) monométhylé, MMAA(V) (CH₃AsO(OH)₂) ; acide d'arsenic (V) diméthylé DMAA(V) ((CH₃)₂AsO(OH)) ; oxyde de triméthylarsine, (CH₃)₃AsO ; arsines volatiles : monométhylarsine, MMA (CH₃AsH₂), diméthylarsine, DMA ((CH₃)₂AsH), triméthylarsine, TMA ((CH₃)₃As), arsénobétaine, AB, et arsénocholine, AC.

Dans les sols, l'arsenic est principalement sous forme inorganique (As(III) et As(V)), et les formes organiques solubles les plus souvent retrouvées sont le MMAA et le DMAA (Smith *et al.*, 1998 ; Dobran, 2004). De plus, étant donné sa grande affinité pour l'oxygène, l'arsenic se retrouve sous forme d'oxyanions, avec différents degrés de déprotonation dans la solution de sol : l'As(V) se retrouve sous forme de H₃AsO₄⁰, H₂AsO₄⁻, HAsO₄²⁻, et l'As(III) sous forme de H₃AsO₃⁰, H₂AsO₃⁻, et HAsO₃²⁻. Les formes méthylées sont aussi présentes sous forme d'anions (Dobran, 2004). Les composés d'arsenic inorganiques (III) et (V) sont les plus importants dans un sol car ils sont très solubles dans l'eau et peuvent changer d'état de valence selon le pH et les conditions redox. Plus précisément, sous des conditions oxiques (Eh > 200 mV ; pH = 5-8), l'arsenic est le plus souvent sous forme d'arséniate (As(V)). Sous des conditions réductrices, c'est l'As(III) (arsénite) qui est dominante (Smith *et al.*, 1998). La spéciation de l'arsenic dans les sols dépend donc de paramètres biotiques, mais aussi abiotiques, qui interagissent entre eux. Les facteurs abiotiques principaux sont le pH, le potentiel d'oxydoréduction, la minéralogie et le contenu en matière organique

du sol, alors que les facteurs biotiques sont les réactions biologiques d'oxydoréduction, et les mécanismes de méthylation – déméthylation de l'arsenic (Smith *et al.*, 1998 ; Dobran, 2004).

De plus, si la réduction de l'arsenic dans le bois est incertaine (cf. 2.1.5), la réduction de l'arsenic dans les sols est bien documentée. En effet, plusieurs études ont montré que l'arsenic pentavalent pouvait être réduit en arsenic trivalent, aussi bien dans des sols contaminés artificiellement par de l'ACC (Balasoïu *et al.*, 2001 ; Dobran et Zagury, 2006), que dans des sols ayant subi une contamination naturelle à l'ACC (Pantsar-Kallio et Manninen, 1997 ; Zagury *et al.*, 2006), dans des proportions pouvant aller jusqu'à 34 % (Zagury *et al.*, 2006), alors que l'arsenic contenu dans la solution d'ACC est exclusivement sous forme pentavalente. De plus, il a été montré sur des sols contaminés artificiellement que la matière organique participait cette réduction (Redman *et al.*, 2002 ; Dobran et Zagury, 2006) en interférant dans l'adsorption de l'arsenic et en augmentant ainsi sa mobilité (Redman *et al.*, 2002).

De manière générale, il est bien connu que les composés d'arsenic inorganiques sont plus toxiques que les composés organiques et, dans un second temps, que l'état d'oxydation trivalent est plus toxique que l'état d'oxydation pentavalent (Smith *et al.*, 1998).

2.5.1.2 Fractionnement de l'arsenic dans les sols

La bioaccessibilité de l'arsenic est liée au fractionnement de l'arsenic dans les sols : l'arsenic bioaccessible semble corrélé à l'arsenic soluble et échangeable (Fendorf *et al.*, 2004) et à l'arsenic lié aux oxydes de fer amorphes et de manganèse (Rodriguez *et al.*, 2003). En effet, même si la biodisponibilité de l'arsenic évolue avec l'âge de la contamination (Turpeinen *et al.*, 2003 ; Yang *et al.*, 2003 ; Fendorf *et al.*, 2004), en général, l'une des premières étapes dans le processus de biodisponibilité est le relargage d'un contaminant depuis la phase solide dans la phase aqueuse ou gazeuse,

rendant ainsi ce processus dépendant du mécanisme de rétention du contaminant dans le sol (Fendorf *et al.*, 2004).

L'arsenic est connu pour sa grande affinité avec les oxydes de fer et de manganèse (Gleyzes *et al.*, 2001 ; Kabata-Pendias, 2001 ; Hudson-Edwards *et al.*, 2004) et il existe de nombreuses méthodes pour extraire l'arsenic lié à cette fraction de sol (Hudson-Edwards *et al.*, 2004). Certaines sont plus faciles à mettre en place que d'autres : Chao et Zhou (1983), en réalisant une étude comparative, ont montré qu'une extraction par hydrochlorure hydroxylamine ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) 0,25 M + acide chlorhydrique (HCl) 0,25 M, à 50°C pendant 30 min, était équivalente à une extraction par réactif de Tamm (0,175 M d'oxalate d'ammonium – 0,100 M d'acide oxalique) pendant 4 h dans le noir, l'extraction au réactif de Tamm étant utilisée en tant que référence. De plus, l'extraction par hydrochlorure hydroxylamine est couramment utilisée pour déterminer l'arsenic lié aux oxydes de fer amorphes et de manganèse (Tessier *et al.*, 1979 ; Gleyzes *et al.*, 2001 ; Rodriguez *et al.*, 2003 ; Amacher et Kotuby-Amacher, 1994 ; Hudson-Edwards *et al.*, 2004). Cependant, le problème de cette méthode est que l'arsenic peut aller se ré-adsorber sur les oxydes de fer cristallins pendant l'extraction. Amacher et Kotuby-Amacher (1994) ont donc proposé une version modifiée de la méthode d'extraction développée par Chao et Zhou (1983) et ont ajouté de l'acide phosphorique (H_3PO_4) 0,025 M, qui empêche cette ré-adsorption.

2.5.2 L'arsenic dans l'organisme

2.5.2.1 Toxicité de l'arsenic dans l'organisme

L'être humain ingère beaucoup d'arsenic via la nourriture et l'eau. Aux Etats-Unis, les adultes peuvent absorber entre 16,7 et 129 $\mu\text{g/j}$ d'arsenic dans la nourriture, et les enfants entre 1,3 et 15,5 $\mu\text{g/j}$; entre 2 et 100 μg d'arsenic sont ingérés quotidiennement via l'eau de consommation (Belluck *et al.*, 2003). Ces quantités, bien qu'importantes,

restent cependant négligeables devant la dose létale à 50 % de mortalité (LD_{50}) pour l'homme d'arsenic, estimée entre 1 et 5 mg/kg (Smith *et al.*, 1998 ; Katz et Salem, 2005). Cependant, elles ne le sont pas devant le MRL pour exposition aiguë (5 $\mu\text{g/kg/j}$) ou pour exposition chronique (0,3 $\mu\text{g/kg/j}$) : un enfant de 17,8 kg ingère (au maximum) 6,5 $\mu\text{g As/kg/j}$.

On retrouve de l'arsenic en quantités non négligeables dans le sang et les urines : environ 100 $\mu\text{g/L}$ et 15 $\mu\text{g/L}$ respectivement. Mais ces valeurs peuvent varier grandement selon l'exposition environnementale (Smith *et al.*, 1998). Au Japon par exemple, l'exposition est beaucoup plus élevée qu'en Amérique du Nord (Le, 2002). Ceci s'explique notamment par le fait que la population japonaise consomme une plus grande quantité de poissons et fruits de mer dans lesquels l'arsenic se bioaccumule. De plus, les composés d'arsenic sont distribués entre tous les organes du corps, aussi bien le foie, les reins, les poumons, ou la rate. L'effet à long terme le plus commun pour une exposition chronique à de l'arsenic inorganique semble être l'induction de cancers (peau et poumons principalement) (Smith *et al.*, 1998). Mais ce ne sont pas les seuls : une courte exposition (aiguë) peut causer des vomissements, des coliques abdominales ou des diarrhées, et très rarement, entraîner un choc vasculaire et la mort (Caussy, 2003).

2.5.2.2 Spéciation de l'arsenic dans l'organisme

La forme d'arsenic retrouvée le plus fréquemment dans le corps est le DMAA(V), suivi des composés inorganiques (As(III), As(V)), puis des monométhylés (Cullen et Reimer, 1989). Mais l'ordre de toxicité n'est pas le même. Il semble en effet que l'espèce la plus toxique soit l'acide d'arsenic (III) monométhylé (MMAA(III)), suivie de l'arsénite (As(III)), puis de l'arséniate (As(V)) (Hughes, 2002).

De plus, l'arsenic se répartit différemment selon la voie d'exposition et l'organe dans lequel il se trouve. Lors d'une ingestion de sol contaminé, les espèces les plus

présentes dans l'estomac (Figure 2.4, n°1) sont l'As(III) et l'As(V) (formes prépondérantes dans les sols). Si l'activité microbienne du sol est assez forte, on peut aussi retrouver en assez petite quantité des espèces méthylées d'arsénite et d'arséniate (Pongratz, 1998). Il est à remarquer que les conditions physico-chimiques de l'estomac (pH faible, conditions anoxiques) sont thermodynamiquement favorables à une réduction de l'arséniate en arsénite, ce qui pourrait provoquer une toxicité accrue. A la sortie de l'estomac vient s'ajouter la bile (Figure 2.4, n°2), dont les composés majoritaires en arsenic sont l'As(III) et le MMAA(III) (Suzuki *et al.*, 2004).

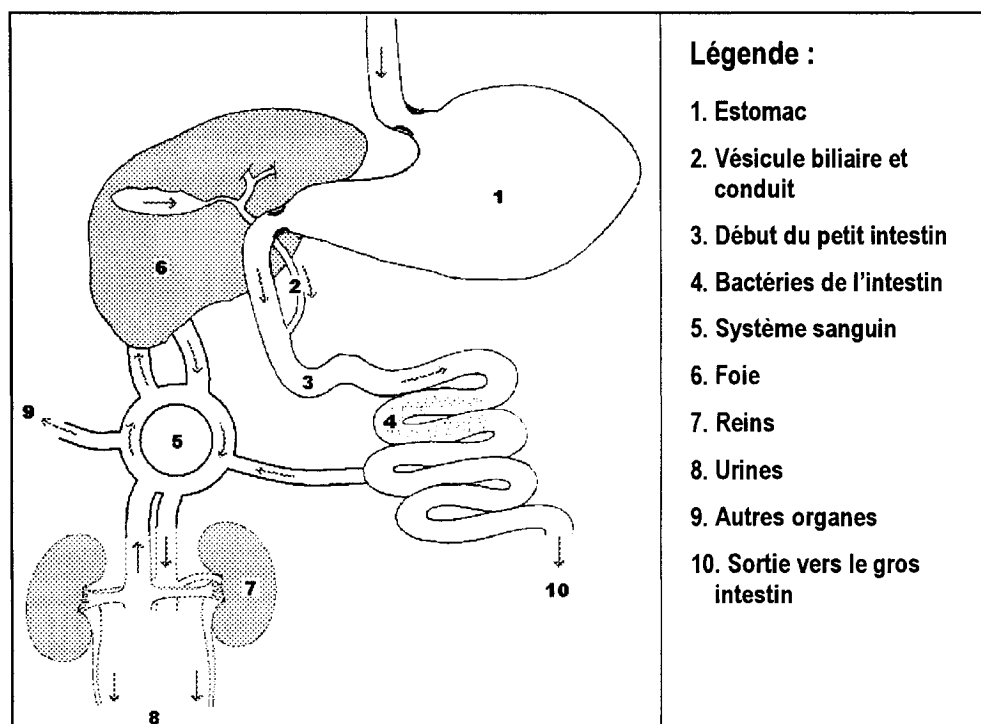


Figure 2.4 : Cycle de l'arsenic dans le système gastro-intestinal

(Adapté de Passavy, 2005)

Dans l'intestin, la spéciation de l'arsenic est beaucoup moins connue. En effet, les bactéries intestinales (Figure 2.4, n°4) ont des capacités très variées, de méthylation (Cullen et Reimer, 1989) comme de déméthylation (Lehr *et al.*, 2003). La forme

d'arsenic prédominante en milieu intestinal est donc très difficile à prédire. De plus, aucune étude sur le sujet ne semble avoir donné lieu à des publications.

Dans le sang (Figure 2.4, n°5), peu d'études ont été menées mais quelques analyses révèlent la présence d'arsénobétaïne et de DMAA(V) (Le, 2002). Si le sang ne semble pas jouer de rôle particulier dans les transformations possibles de l'arsenic dans l'organisme, il en va autrement pour le foie. En effet, c'est dans le foie qu'a lieu la méthylation de l'arsenic, selon l'enchaînement : $\text{As(V)} \rightarrow \text{As(III)} \rightarrow \text{MMAA(V)} \rightarrow \text{MMAA(III)} \rightarrow \text{DMAA(V)} \rightarrow \text{DMAA(III)} \rightarrow \text{TMAO(V)} \rightarrow \text{TMA(III)}$ (Figure 2.5).

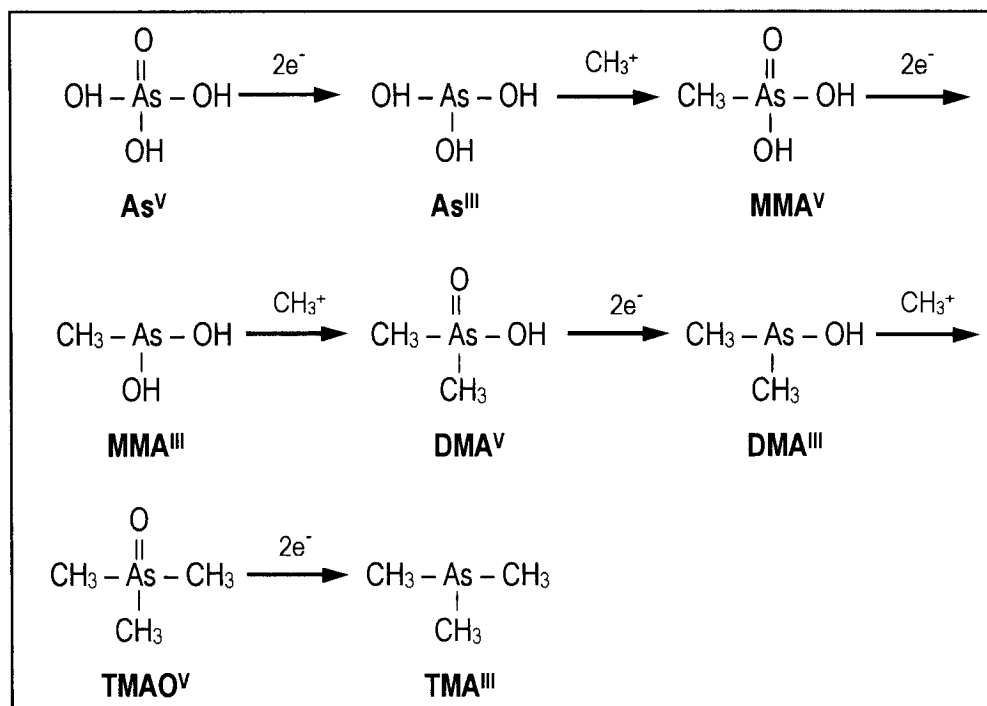


Figure 2.5 : Biométhylation de l'arsenic

(Source : Le, 2002)

Une fois passé le système GI, l'arsenic peut être excrété de l'organisme, ou se diriger vers d'autres organes (via le système sanguin). L'excrétion se fait très majoritairement par les urines (Figure 2.4, n°8) (via les reins), dans lesquelles l'arsenic est retrouvé

majoritairement sous forme de DMAA(V). On trouve aussi les formes : MMAA(V), As(III) et As(V), mais en quantités plus faibles (Le, 2002). En règle générale, les proportions de chaque métabolite dans les urines sont les suivantes : 55–80 % de DMAA(V), 10–20 % de MMAA(V), et 10–30 % d'arsenic inorganique (Le, 2002).

L'arsenic peut être retrouvé dans les organes autres que GI (Figure 2.4, n°9), tels que les poumons, la peau, ou les muscles, mais en très faible quantité (trois à dix fois inférieures aux concentrations retrouvées dans le système GI) (WHO, 2001). De plus, l'arsenic peut s'accumuler dans les ongles et les cheveux à cause de leur forte concentration en kératine, et donc en cystéine, à laquelle l'arsenic inorganique vient se lier. Les concentrations d'arsenic dans les cheveux et les ongles sont d'ailleurs utilisées en tant qu'indicateurs d'exposition à l'arsenic inorganique (Le, 2002).

CHAPITRE III : ARTICLE
IN VITRO GASTROINTESTINAL BIOAVAILABILITY OF
ARSENIC IN SOILS COLLECTED NEAR CCA-TREATED
UTILITY POLES

3.1 Titre du manuscrit

In vitro gastrointestinal bioavailability of arsenic in soils collected near CCA-treated utility poles

3.2 Auteur et co-auteur

Priscilla Pouschat et Gérald J. Zagury

Département des génies civil, géologique et des mines, École Polytechnique de Montréal

3.3 Abstract

Because of the potentially high arsenic concentrations found in soils immediately adjacent to chromated copper arsenate (CCA)-treated wood structures and utility poles, CCA-contaminated soil ingestion can be an exposure route to arsenic for children. Therefore, a strong need exists to provide accurate data on oral relative bioavailability of arsenic (obtained in vivo or in vitro) in field-collected CCA-contaminated soils for risk assessment purposes. The major objectives of this study were (1) to assess the in vitro gastrointestinal bioavailability, i.e. bioaccessibility, of arsenic in contaminated

soils collected near CCA-treated utility poles in service, (2) to determine the influence of soil properties and arsenic fractionation on arsenic bioaccessibility, and (3) to estimate an average daily arsenic intake from incidental soil ingestion. Arsenic bioaccessibility (in vitro gastrointestinal (IVG) method) was determined on well characterized composite surface soil samples collected immediately adjacent to twelve CCA-C/polymer additive (PA)-treated utility poles after 18 months of service. Moreover, total arsenic content using 3 digestion methods and bioaccessible arsenic (IVG method) were also determined in 3 certified reference materials. Total soil arsenic concentrations in soils ($< 300 \mu\text{m}$) varied from 37 ± 2 to $251 \pm 12 \text{ mg/kg}$ (mean: $169 \pm 69 \text{ mg/kg}$), irrespective of soil organic matter content with the major soil-bound arsenic species being As(V). Arsenic bioaccessibility ranged between 25.0 ± 2.7 and $66.3 \pm 2.3 \%$ (mean value: $40.7 \pm 14.9 \%$), and was influenced by soil properties and arsenic fractionation. Bioaccessible arsenic was positively correlated with total organic carbon content ($r^2 = 0.36$, $p < 0.05$, $n = 12$) and with water-soluble arsenic ($r^2 = 0.51$, $p < 0.01$, $n = 12$), but not with total arsenic content or hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic. In less organic soils, bioaccessible arsenic was positively correlated with sand content. Using conservative exposure parameters, the mean daily arsenic intake from incidental ingestion of contaminated soil near CCA-treated utility poles was $0.18 \pm 0.09 \mu\text{g As/kg/d}$ (range: 0.05-0.32). The maximum potential intake would occur following exposure to CCA-impacted organic soils (mean daily intake of $0.27 \mu\text{g As/kg/d}$) and sandy soils (mean daily intake of $0.22 \mu\text{g As/kg/d}$). These arsenic intakes are lower than the non carcinogenic oral minimal risk levels for chronic and acute intake of arsenic (0.3 and $5 \mu\text{g/kg/d}$) and appeared negligible compared to the daily arsenic intake from water and food ingestion for children.

3.4 Introduction

Arsenic (As) is naturally present in soils and background concentrations can range from 0.2 to 40 mg/kg but rarely exceed 15 mg/kg in North America (1). Arsenic occurrence in soils can also be due to several anthropogenic sources including mining and pharmaceutical activities, combustion of municipal solid waste and fossil fuel, smelting and pesticide use (1). Another potential contributing source is the use of chromated copper arsenate (CCA) as an inorganic waterborne wood preservative. In North America, the most widely used formulation of CCA is type C, containing (w/w) 47.5 % CrO_3 , 18.5 % CuO and 34 % As_2O_5 (2). Soils contaminated by arsenic can be found under CCA-treated domestic wood structures, and immediately adjacent to utility poles, decks and fences (3). However, As concentrations generally reach background levels within 0.50 m of wood-treated structures (4-5). Previous studies have shown that following the leaching of CCA components from treated wood into soil, copper was the predominant metal, followed by arsenic and chromium (5-7). However, the major environmental concern is related to soil contamination by arsenic, because of its toxicity and higher mobility in soils relative to chromium and copper (5, 7).

In the United States, ingestion of drinking water and food is the primary exposure route to arsenic (up to 230 $\mu\text{g}/\text{d}$) with soil a small component, less than 1 % of intake (8). Moreover, exposure to arsenic by dermal absorption and inhalation is considered negligible compared to ingestion (9). Yet incidental ingestion of As-contaminated soil is a significant exposure pathway for children (2 to 6 years old) because of their important hand-to-mouth activity (10-12), estimated at 8 to 10 contacts per hour (9-13). Nevertheless, the fractions of arsenic that represent a risk for human health are the biologically absorbable ones. Oral bioavailability is defined as the fraction of a contaminant that reaches the systemic circulation from the gastrointestinal (GI) tract

(14) whereas bioaccessibility is defined as the fraction of the contaminant dissolved in the GI system (14-16) which is potentially available for absorption.

The method routinely used to determine arsenic concentration in soil for risk assessment is digestion by hot acid extraction using USEPA SW-846, Method 3050 (17) (12). This digestion method extracts nearly all arsenic in the soil and arsenic bioavailability is not taken into account. Consequently, the use of soil total arsenic content to quantify daily intake during exposure assessment is unlikely to provide an accurate risk assessment. Recently, a few exposure equations have been proposed to quantify daily intake of nondietary arsenic following exposure to CCA-contaminated soils (13, 18). For incidental ingestion of soil by children, arsenic intake is quantified considering the exposure point concentration, the soil ingestion rate, the exposure frequency, the child body weight, and the contaminant relative bioavailability (RBA) (13, 18).

In vitro methods are useful as rapid screening tools in assessing relative bioavailability of arsenic at contaminated sites (19). Among the numerous in vitro chemical methods available (16), the in vitro gastrointestinal (IVG) method was selected for this study because it has been successfully validated with in vivo tests on immature pigs (11). Bioaccessible As obtained using the IVG method was reported to be an accurate estimator of relative oral bioavailable arsenic for various non calcinated slags and contaminated soils (19). Moreover, according to the same authors, the IVG method slightly better correlates with relative oral bioavailability of arsenic in numerous materials (in vivo tests on immature swine) compared with the physiologically based extraction test (PBET) developed by Ruby et al. (20).

In order to compare the different in vitro methods used to assess arsenic bioaccessibility, the procedures (IVG method in this case) must be tested with certified soil samples. Therefore, two National Institute of Science and Technology (NIST)

Standard Reference soil Materials (SRM), and one Resource Technology Corporation (RTC) Certified Reference Material (CRM) were tested. Furthermore, calculation of arsenic bioaccessibility highly depends on the determination of the total metal concentration in soil. Thus, 3 different extraction methods were compared to determine total arsenic content in certified and field-collected soils. The first method uses HCl and is applied to extract As from soils before determining soil-bound arsenic speciation (2, 21-22), the second method is a total-recoverable soil digestion (23) using HNO₃ and HCl, and the third method is a total-total digestion method, using HNO₃, HClO₄ and HF.

Over the last decade, a few studies have stressed the importance of considering oral As-bioavailability in risk assessment of contaminated soils (11, 14-16, 20, 24), and more recently, in As-exposure assessment from CCA-treated wood (13, 18). However, because of the variability of soil properties affecting arsenic retention among soils (25), bioaccessibility of arsenic is expected to vary with sites and origin of contamination (for example mining vs. wood-treatment). Today, a strong need exists for an accurate assessment of arsenic bioaccessibility in field-collected CCA-contaminated soils. As-bioaccessibility data obtained from 12 field-collected soils and reported in this study should provide needed input for exposure and risk assessments from CCA-contaminated soils.

The main objectives of this study were (1) to assess the bioaccessibility of arsenic in contaminated soils sampled near CCA-treated utility poles in service, (2) to determine the influence of soil properties (texture and organic carbon content) and arsenic fractionation (water-soluble and hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic) on arsenic bioaccessibility, and (3) to estimate an average daily arsenic intake from ingestion of soil near CCA-treated utility poles. Additionally, two secondary objectives were: (1) to determine arsenic bioaccessibility in 3 standard reference soil materials

using the IVG method, and (2) to compare 3 extraction procedures for the determination of total arsenic content in certified and CCA-contaminated soils.

3.5 Experimental section

3.5.1 Site description, soil samples and certified reference materials

Four different sites were selected in the Montreal area (QC, Canada) based on soil texture and organic matter content (silty, organic, and sandy soils). Three 40 ft-high (12.2 m) class-5 jack pine poles (named A, B, C), all treated in the same batch with CCA-C/polymer additive (PA) in 2002, were then installed (at a depth of 1.8 m below ground) at each of the four sites in November 2002.

Eighteen months after the installation of the 12 poles, soil samples were manually collected with a plastic shovel at distances of 0, 0.25 and 0.50 m from the pole and at depths of 0, 0.5 and 1.0 m along three different axes (0°, 120°, 240°) around the poles. An auger was used for excavation at depths of 0.5 and 1.0 m. This radial sampling protocol was used to obtain a representative overview of soil contamination (5). At the soil surface (0 – 0.02 m) and for each pole, one additional sample was collected 25 m from the pole (control soil) along the 0° axis. Soil samples were placed in 250-mL plastic containers after removal of vegetation (if present), roots, and gravel. Soil samples were then immediately transported to the laboratory and stored at 4°C prior to their characterization and their subsequent use in the experiments. Within hours after sampling, composite samples, consisting of three samples collected immediately adjacent to each of the twelve poles along the three different axes (0°, 120°, 240°), were prepared in the laboratory. All instruments used for sample collection were cleaned sequentially with a phosphate-free detergent, rinsed with deionized water (18.2 Mohms), then with 10% (v/v) nitric acid, and finally rinsed twice with deionized water.

Total arsenic concentration, water-soluble arsenic, hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic and bioaccessible arsenic were determined in triplicates on composite surface samples. All samples were previously dried at 45°C for at least 24 hours and sieved (< 300- μ m). Arsenic concentrations are reported on a dry weight basis.

The NIST SRMs tested in this study were SRM 2710 (Montana Highly Elevated Trace Element Concentration or Montana I), and SRM 2711 (Montana Moderately Elevated Trace Element Concentration or Montana II). The SRM 2710 has already been tested with various in vitro extraction methods (15, 26-27), whereas the SRM 2711 was previously used to compare five in vitro digestion models (16). Bioaccessible arsenic was also determined in RTC CRM 025-050 (sandy loam soil with a pH of 7.21) which is certified for moderate arsenic concentrations.

3.5.2 Soil characterization

Soil samples were characterized for pH, total volatile solids, particle-size distribution, cation exchange capacity (CEC), total carbon and total inorganic carbon. Characterization was performed on composite surface soil samples, except for pH and volatile solids which were generally measured at each depth (0, 0.50 and 1 m). The pH was measured in distilled water according to Method D 4972-95a (28) with a soil to water ratio of 1:2 (except organic soils, ratio of 1:16) using a BN electrode (Orion Research, Beverly, MA) and an Accumet Model 25 pH meter (Fisher Scientific, Hampton, NH). Volatile solids were determined at 550°C according to Karam (29). Particle-size distribution was assessed with ASTM Methods D 1140-92 and D 422-63 (30) and the soils were classified with the USDA classification system (gravel [> 2 mm], sand [2 mm-50 μ m], silt [50-2 μ m], and clay [< 2 μ m]). Cation exchange

capacity (CEC) was determined with the sodium acetate method (pH = 8.2) according to Chapman (31). To determine total inorganic carbon, a phosphoric acid treatment followed by an infrared determination of evolved CO₂ was performed (32). Total carbon content was measured by combustion with an induction furnace (LECO Corporation, St. Joseph, MI). Total organic carbon (TOC) was calculated from the difference between total carbon and total inorganic carbon. The soil moisture content was determined at 105°C according to ASTM Method D 2216-92 (30).

3.5.3 Total arsenic concentrations

For comparison purposes, 3 soil digestion methods were performed on 2 certified reference materials (CRM 025 and SRM 2710). The first method is a digestion with 10 M HCl which aims at extracting the arsenic present in soil without changing its oxidation state (2, 21). The second digestion (8 M HNO₃ + 2 M HCl) was performed according to Method MA. 200–Mét. 1.1 (33). This method was developed using USEPA SW-846 Method 3050 (17), and Standard Method 3030 F (34). These two methods were also applied to the field-collected soil samples. The last digestion method (HNO₃, HF, HClO₄) was performed according to Standard Method 3030 I (34). Total arsenic was analyzed by inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry - hydride generation (ICP-AES-HG) (Thermo Jarrell Ash, Franklin, MA; model IRIS). The detection limit was 1 µg/L. Recovery percentages were calculated by dividing the arsenic concentration measured by the certified arsenic concentration (Table 3.1). Total arsenic in control soil samples was determined by ICP-AES-HG after digestion with 8 M HNO₃ + 2 M HCl.

Bioaccessibility was calculated using total As concentrations determined following digestion with 8 M HNO₃ + 2 M HCl.

3.5.4 Soil-bound arsenic, water-soluble arsenic and hydroxylamine hydrochloride extractable arsenic

After preparation of the composite samples, determination of soil-bound arsenic speciation (As(III) and As(V)) was immediately performed on a 20-mL aliquot of the total arsenic extract (using 10 M HCl) as per the solvent extraction method described by Balasoïu et al. (2). This method consists of a selective separation of As(III) and As(V), based on the affinity of As(III) for the organic complex APDC–MIBK (ammonium pyrolidine dithiocarbamate – methyl isobutyl ketone). The organic arsenic species are not measured with this method. After phase separation, As(V) was analyzed in the aqueous phase and As(III) was determined from the difference between total arsenic and inorganic arsenate. Arsenite found in the organic fraction as As(III)-APDC complex in MIBK was then extracted by two successive back-extractions into HNO₃ for mass-balance verification. After separation, total As concentrations were determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) (Perkin Elmer, Norwalk, CT; model ELAN 6100). The detection limit for As was 1 µg/L.

For water-soluble arsenic determination, 1 g of soil (< 300 µm) was placed in a 40-mL polypropylene copolymer (PPCO) centrifuge tube and mixed with 20 mL of deionised water (12). The tubes were vigorously shaken for 2 hours on a Wrist Action shaker (Burrell Scientific, Pittsburg, PA; model 75), and then centrifuged (Beckman Instruments, Palo Alto, CA; model J2-21) at 7 740 x g for 5 min. The supernatants were filtered (0.45 µm) and analyzed by ICP-MS.

Extraction of arsenic bound to amorphous iron and manganese oxides was performed according to Rodriguez et al. (12). One gram of soil (< 300 µm) was placed in a 500-mL PPCO centrifuge bottle and mixed with 250 mL of a solution containing 0.25 M HN₂OH·HCl, 0.25 M HCl and 0.025 M H₃PO₄ to prevent arsenic readsorption. The bottles were placed on a rotary incubator (New Brunswick Scientific, Canada; model

Innova 4000) at 60°C and shaken for 2 hours at 400 rpm. They were then centrifuged at $6\,370 \times g$ for 10 min and the supernatants were filtered (0.45 μm) and analyzed by ICP-MS. In addition to the former procedure, hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic in certified sample SRM 2710 was also determined following extraction at 50°C during 30 min according to Chao and Zhou (35). The results of the two procedures were nearly identical (less than 1 % difference).

3.5.5 In vitro gastrointestinal bioaccessibility

Arsenic bioaccessibility was determined on 12 surface soil samples collected immediately adjacent to the poles, and on 3 certified reference materials using the IVG method (11) with slight modifications. Briefly, 1 g of soil ($< 300 \mu\text{m}$) was added to 150 mL of gastric solution (containing 0.15 M NaCl, Anachemia, Lachine, QC, Canada, ACS grade, and 1 % w/v pepsin, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, n° P-7000) in a 250 ml beaker placed in a water bath at 37°C. Gastric solution pH was adjusted and maintained at 1.80 ± 0.05 with environmental-grade HCl throughout the 1-h gastric phase. During the entire procedure (2 h), argon was constantly bubbled through the solution, and mixing was performed using individual paddle stirrers set at a speed of 100 rpm. After 1 h, 10 mL of gastric solution were collected for As analysis. The extraction solution was then modified to simulate intestinal solution by adding a saturated NaHCO_3 solution to adjust the pH to 5.50 ± 0.05 , followed by addition of porcine bile extract (0.49 g; Sigma-Aldrich, n° B-8631) and porcine pancreatin (0.049 g; Sigma-Aldrich, n° P-1500). After 1 h, 10 mL of intestinal solution were collected. The 10-mL samples were collected using a new Luer-lock syringe, filtered (0.45 μm) and analyzed for total arsenic by ICP-MS.

For determination of total arsenic in soil, soil-bound arsenic speciation, water-soluble arsenic, hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic, and bioaccessible arsenic,

all labware was cleaned sequentially with a phosphate-free detergent and rinsed with distilled water. It was then soaked in 10 % (v/v) nitric acid for 24 hours, washed three times with distilled water, and finally rinsed three times with deionised water.

3.5.6 Quality assurance, quality control

Thirty one procedure blanks were analyzed in parallel during the determination of total arsenic in soil ($n = 3$), soil-bound arsenic speciation ($n = 8$), water-soluble arsenic ($n = 4$), hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic ($n = 4$), and bioaccessible arsenic ($n = 12$). Total arsenic in all procedure blanks was always below $1 \mu\text{g/L}$.

The accuracy of the arsenic speciation method was assessed by extracting 20 standard arsenic solutions prepared on a daily basis: $100 \mu\text{g/L As(V)}$ ($n = 8$) prepared from arsenic pentaoxide trihydrated, $100 \mu\text{g/L As(III)}$ ($n = 8$) prepared from diarsenic trioxide, and $200 \mu\text{g/L total As}$ ($100 \mu\text{g/L As(III)} + 100 \mu\text{g/L As(V)}$) ($n = 4$). Accuracy of the solvent extraction method was confirmed by a quantitative average recovery of As(V) (99.5 %, ranging from 98 to 100 %) and As(III) (94 %, ranging from 89 to 97 %). It was also confirmed by an average recovery (calculated as $(\text{As(V) extracted} + \text{As(III) extracted in back-wash}) / ((\text{As(V)} + \text{As(III)}) \text{ added}) * 100$) of 101 % (96–110 %).

Moreover, during total arsenic determination in soils and in gastrointestinal extracts, duplicate and spiked samples were also analyzed. For total soil-bound arsenic, the average relative percent deviation between duplicates ($n = 3$) was 3 % (0–6 %). The average recovery for the spiked samples ($n = 3$) was 102 % (91–115 %). For total arsenic in gastrointestinal extracts, the average relative percent deviation between duplicates ($n = 6$) was 2 % (0–3 %) whereas the average recovery for the spiked samples ($n = 6$) was 105 % (99–111 %).

3.5.7 Bioaccessibility and exposure assessment calculations

Bioaccessible arsenic was calculated by dividing the arsenic concentration ($\mu\text{g/g}$) measured in the in-vitro gastric solution or the in-vitro intestinal solution by the total soil arsenic concentration ($\mu\text{g/g}$), as described by the following equation:

$$\text{Bioaccessible As (\%)} = \frac{\text{In vitro As}}{\text{Total As}} \times 100 \quad (3.1)$$

For exposure assessment needs, arsenic intake from incidental ingestion of soil was calculated with the following equation:

$$\text{CDI} = \frac{\text{EPC} \times \text{SIR} \times \text{EF} \times \text{B}}{\text{BW}} \times \text{CF} \quad (3.2)$$

Where:

CDI = chemical daily intake = ingested arsenic ($\mu\text{g/kg}$ body weight/d)

EPC = exposure point concentration = total arsenic in soil < 2mm (mg/kg)

SIR = soil ingestion rate (100 mg/d)

EF = exposure frequency (0.5 = 182 d/y; 13)

B = bioaccessibility (%)

BW = body weight (17.8 kg for a 2-6 year-old child (18, 36))

CF = unit conversion factor (10^3).

SIR values ranging from 0.009 to 8 g per day are reported in the literature (8, 10, 13, 36). The United States Environmental Protection Agency (36) recommends an average daily soil ingestion rate of 50 mg for a 2 ½ year-old child whereas other studies agree on a more conservative reasonable maximum exposure (RME) value of 100 mg/d for a child under 6 (18).

Statistical treatment of the data was performed using STATISTICA 7 software (37).

3.6 Results and discussion

3.6.1 Comparison of digestion methods

Total arsenic concentrations in field-collected soils revealed that the 8 M HNO₃ + 2 M HCl soil digestion extracted significantly more arsenic than the 10 M HCl extraction, except in samples 3A and 3B (Table 3.3). Similar results were obtained when comparing the same digestion methods on more than 30 field-collected soils sampled near CCA-C/polyethylene glycol (PEG)-treated wood poles in the Montreal area (unpublished data). Pääntar-Kallio and Manninen (38) compared autoclaving with 8 M HNO₃ and extraction with 10 M HCl and concluded that the total arsenic concentrations were very similar. In our study, the recovery percentages of certified samples SRM 2710 and CRM 025 calculated using the certified values were 92 % following extraction with 10 M HCl, and ranged between 86 and 94 % for the 8 M HNO₃ + 2 M HCl digestion (Table 3.1). No significant difference ($p = 0.40$) was observed between the two extraction methods for the CRM 025 sample, but the 8 M HNO₃ + 2 M HCl digestion extracted significantly less arsenic than the 10 M HCl digestion in the SRM 2710 certified sample. However, when applied to the field-collected soils, the 8 M HNO₃ + 2 M HCl digestion method extracted significantly more arsenic than the 10 M HCl digestion method ($p < 0.01$). Therefore, the former method was used for As-bioaccessibility calculations. On the other hand, the total-total digestion method (HNO₃, HF and HClO₄) achieved comparable recoveries for SRM 2710 and CRM 025 (Table 3.1).

3.6.2 Soil properties and total arsenic

Selected soil properties of the field-collected CCA-contaminated soils are shown in Table 3.2. Sites 1 (loam and silt loam) and 2 (organic soils) had higher fine-particle

content (47 and 39 % on average, respectively) than sites 3 and 4 (sand, sandy loam or loamy sand) (17 and 26 % on average, respectively). The pH of the 12 field-collected soils was similar (6.31 ± 0.56 on average) despite the different soil textures and chemical properties of each site. TOC content was very high on site 2 (32 ± 11 %), moderate on site 4 (5.7 ± 0.4 %) and much lower on sites 1 and 3 (2.3 ± 0.7 and 2.3 ± 0.2 % respectively). TOC content was in agreement with total volatile solids. Moreover, the organic soils (site 2) had the highest average CEC (249 meq/100g) whereas less organic soils (sites 1 and 3) had the lowest average values (23.4 and 28 meq/100g respectively). Balasoiu et al. (2) reported that organic matter content strongly influenced the CEC in soils artificially contaminated with CCA whereas the clay contribution to the CEC was less important. This is confirmed here with field collected CCA-contaminated soils.

Total arsenic content in soils ($< 300 \mu\text{m}$) ranged from 37.4 ± 2.5 to 251 ± 12 mg/kg (Table 3.3), with a mean concentration of 169 ± 69 mg/kg. Total arsenic content in soils < 2 mm (data not shown) ranged, however, from 77 to 200 mg/kg with a mean concentration of 148 ± 38 mg/kg. As concentrations in control soil samples (background levels) were always below 6 mg/kg. Maximum As content was up to four times higher than Québec Level C criterion (50 mg/kg) (39). These high As concentrations found near utility poles in service for 18 months are, however, lower than the values measured in field-collected CCA-C/PEG-contaminated soils sampled near utility poles in service for more than four years (5). However, it must be mentioned that arsenic concentrations decrease significantly with distance, and that background levels are generally reached within 0.25 to 0.50 m from the poles (3, 5-6).

No significant differences were found between total arsenic concentrations in the soil samples ($< 300 \mu\text{m}$) collected on the four different sites (138 ± 84 , 181 ± 34 , 138 ± 97 , and 221 ± 42 mg/kg in sites 1, 2, 3, and 4 respectively) despite the different soil textures and carbon content. In fact, correlation between TOC and total arsenic in soil

was very weak ($r^2 = 0.006$, $n = 12$). It's well known that arsenic ions do not bind appreciably to organic matter in soils (2, 40). Furthermore, at the near neutral pH of the study soils, the pH-dependant surfaces including the functional groups of organic matter were probably negatively charged. This overall similar arsenic sorption in soils was previously reported in soils artificially contaminated with CCA (2, 22).

3.6.3 Soil-bound arsenic, hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic, and water-soluble arsenic

Low proportions of soil-bound As(III) were observed in soils (generally less than 2.3 %, except for sample 4C (13.2 ± 0.6 %)) despite the fact the CCA-C solution initially contained only As(V) (Table 3.3). Published results are somehow contradictory on the possible reduction of As(V) to As(III) in CCA pressure-treated wood. Some studies report low proportions of arsenite in leachate from CCA-treated wood (41-42), and in wood itself (43) whereas other studies report that arsenic is in the pentavalent state in wood samples (41, 43-44). In any case, if reduction of arsenate occurs in pressure-treated wood, it must be very limited. Our results suggest that some As(V) reduction occurred once arsenic had leached into the soil. A previous study reports soil-bound As(III) percentages ranging from 0 to 3 % in field-collected CCA-contaminated soils (38). In synthetic CCA-contaminated soils, soil-bound As(III) percentages ranging from 5 to 31 % (2) and from 1 to 11 % (22) were also reported.

Hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic ranged from 79 ± 9 % to 108 ± 10 % (Table 3.3). In the SRM 2710 (data not shown), almost all arsenic was extracted with 0.25 M hydroxylamine hydrochloride (99 ± 3 %). This reagent extracted nearly 100 % of the total arsenic in all study samples except in the organic samples collected on site 2 (mean value of 89 ± 8 %). These high extraction values suggest that this extractant does not *selectively* dissolve amorphous iron and manganese oxides to subsequently

release arsenic from CCA-contaminated soils. According to Rodriguez et al (12), 0.25 M $\text{HN}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, 0.25 M HCl and 0.025 M H_3PO_4 extracts surficially adsorbed arsenic and *some* of the arsenic in the mineral matrix.

In soils with less organic carbon content (sites 1, 3 and 4), water-soluble arsenic was very low, ranging from 1 to 4 % of total arsenic, but was much higher in the organic soil samples (mean of 24 ± 10 %). In the SRM 2710, only 0.34 ± 0.01 % of arsenic was water-soluble. Water-soluble arsenic was highly correlated with TOC ($r^2 = 0.93$, $p < 0.01$, $n = 12$) but was not correlated with total As concentration. These results were in agreement with recent data obtained with soils artificially contaminated with CCA (22).

3.6.4 Bioaccessible arsenic in field-collected soils

Gastric and intestinal bioaccessibility results for field-collected CCA-contaminated soils and reference soil materials are presented in Table 3.4. Gastric arsenic bioaccessibility for the 12 field-collected soils ranged from 20.7 ± 2.9 % to 63.6 ± 1.2 %. At the end of the intestinal phase, As bioaccessibility was slightly higher (by 4.5 % on average), and ranged from 25.0 ± 2.7 % to 66.3 ± 2.3 %. In the three reference soil samples, however, arsenic bioaccessibility slightly decreased after the gastric phase. The mean arsenic bioaccessibility was 40.7 ± 14.9 % for the twelve field-collected soils. It must be noted that this mean bioaccessibility is in agreement with the RBA (juvenile swine dosing trial) of arsenic in soil collected adjacent to CCA-treated utility poles determined by Casteel et al. (2003), and published in a report prepared for the American Chemistry Council CCA working group according to Dubé et al. (18). The reported mean RBA for soil arsenic was 49 % (90 % confidence interval, 41-58 %). In our study, maximum intestinal bioaccessibilities were measured in the 3 organic soils collected on site 2 (57.3 ± 9.9 % on average) and in the sandy soils of site 3

($50.8 \pm 2.9\%$ on average). These values were significantly higher ($p < 0.005$) than bioaccessibilities determined in fine-grained soils (site 1, $26.7 \pm 1.7\%$) and sandy loam soils (site 4, $27.9 \pm 2.6\%$).

Bioaccessible arsenic was positively correlated with water-soluble arsenic ($r^2 = 0.51$, $p < 0.01$, $n = 12$), but was not correlated with total metal concentration in soils ($r^2 = 0.002$, $p = 0.88$). Rodriguez et al. (12) also reported a linear regression coefficient r of 0.68 between in vivo relative bioavailable arsenic and water-soluble arsenic in 15 soil samples (calcine materials, iron slag and residential soils). However, contrary to the observations of Rodriguez et al. (12) who found a strong correlation between hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic and in vivo relative bioavailable arsenic ($r = 0.88$), bioaccessible arsenic and hydroxylamine hydrochloride-extractable arsenic were not significantly correlated in our study dealing with CCA-contaminated soils ($r^2 = 0.04$, $p = 0.53$, $n = 12$). Based on these observations, water-soluble arsenic seems to be the best indicator for the preliminary assessment of arsenic RBA in a broad range of contaminated soils. Moreover, arsenic bioaccessibility was significantly correlated with TOC ($r^2 = 0.36$, $p < 0.05$, $n = 12$). In less organic soils (sites 1, 3 and 4), bioaccessible arsenic was also positively correlated with sand content ($r^2 = 0.52$, $p < 0.05$, $n=9$).

As previously stated (11, 19), extending the in vitro method beyond the gastric phase does not seem to improve the ability of the method to measure bioavailable arsenic. We also observed a slight increase in As solubilization after the intestinal phase. However, in humans, the absorptive process mainly occurs in the small intestine (15-16). Moreover, intestinal absorption can be limited by metal speciation (e.g. particle bound, free ion or complexation interactions with food, exogenous chemicals or GI components) (15). Therefore, the in vitro intestinal extraction step should still be performed for further research on arsenic species present in the intestinal solution.

3.6.5 Bioaccessible arsenic in standard reference soil materials

Intestinal bioaccessibility of As in SRM 2710 (626 ± 38 mg As/kg) using the IVG method was 25.2 ± 0.3 % (Table 3.4). This value is lower than the values reported in the literature using different in vitro GI extraction tests. Indeed, Ellickson et al. (15) found that at the end of their bioaccessibility procedure using artificial biofluids (26), 65.9 ± 5.2 % of arsenic in the SRM 2710 was bioaccessible. However, the authors also reported that the in vivo (rat feeding) oral bioavailability of the same certified soil was much lower (37.8 %). Arsenic bioaccessibility in the SRM 2711 (105 ± 8 mg As/kg) was 43.0 ± 5.6 % (Table 3.4). Oomen et al. (16) tested the SRM 2711 with five different in vitro methods, but unfortunately, not with the IVG method. They report bioaccessibilities ranging from 41 ± 2 % to 59 ± 2 % with an average value of 51.8 ± 7.5 %. However, all the in vitro procedures are operationally defined, and to be useful, they have to be validated with in vivo tests. To allow inter-laboratory comparison with numerous standard reference soils, the IVG method was also applied to the sandy loam CRM 025-050. In agreement with its coarser texture (sandy loam) compared with the NIST certified soils, its bioaccessibility (64.8 ± 5.2 %) was the highest of the certified soil samples.

3.6.6 In vitro bioavailability and exposure assessment

Based on the bioaccessibility (equivalent to oral relative bioavailability) of arsenic in field-collected soils in the current study, one can estimate the mean daily arsenic intake from incidental ingestion of contaminated soil near CCA-treated utility poles. The calculations suggest that a child exposed to soil near CCA-C/PA-treated utility poles could ingest 0.05 to 0.32 $\mu\text{g As/kg/d}$ (mean value of 0.18 ± 0.09 $\mu\text{g As/kg/d}$), considering a conservative soil ingestion rate of 100 mg/d, an exposure frequency of

0.5, and a body weight of 17.8 kg. The EPCs used for exposure assessment calculations were the arsenic concentrations in soils (< 2 mm) sampled immediately adjacent to the poles (mean value of 148 ± 38 mg/kg) even though those EPCs are valid only at a radial distance of 0-0.05 m from the poles. It should be emphasized that arsenic concentrations noticeably decrease beyond 0.1 m from the poles (5). Given the limited extent of soil impacted by arsenic, it is unlikely that a child playing near a CCA-treated utility pole will be exposed only to the soil impacted by arsenic. Nevertheless, using conservative exposure parameters, the maximum potential arsenic intake originates from exposure to CCA-impacted organic soils (mean daily intake of $0.27 \mu\text{g As/kg/d}$) and to sandy soils (mean daily intake of $0.22 \mu\text{g As /kg/d}$) because of the higher As bioaccessibility in these soil types. The mean daily arsenic intake from exposure to soils immediately adjacent to CCA-treated poles represents 60 % of the non carcinogenic oral minimal risk level (MRL) for chronic intake of arsenic ($0.3 \mu\text{g/kg/d}$) (45). Moreover, the mean daily arsenic intake from ingestion of soils immediately adjacent to CCA-treated poles is negligible compared to the daily arsenic intake from water and food ingestion for children ($0.20 - 6.5 \mu\text{g As/kg/d}$) (8).

3.7 Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the financial support from Bell Canada, Hydro Québec, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and Fond Québécois de la Recherche sur la Nature et les Technologies (FQRNT). Thanks are due to Manon Leduc and Lucie Jean for their assistance during soil sampling and soil characterization.

3.8 Literature cited

- (1) Smith, E.; Naidu, R.; Alston, A. M. Arsenic in the soil environment: a review. *Advances in Agronomy* **1998**, *64*, 149-195.
- (2) Balasoïu, C. F.; Zagury, G. J.; Deschenes, L. Partitioning and speciation of chromium, copper, and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition. *Sci. Total Environ.* **2001**, *280*, 239-255.
- (3) Zagury, G. J.; Pouschat, P. Comments on "Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds". *Environ. Health Perspect.* **2005**, *113*, A508.
- (4) Chirenje, T.; Ma, L. Q.; Clark, C.; Reeves, M. Cu, Cr and As distribution in soils adjacent to pressure-treated decks, fences and poles. *Environ. Pollut.* **2003**, *124*, 407-417.
- (5) Zagury, G. J.; Samson, R.; Deschênes, L. Occurrence of metals in soil and ground water near chromated copper arsenate-treated utility poles. *J. Environ. Qual.* **2003**, *32*, 507-514.
- (6) Cooper, P. A.; Ung, Y. T.; Aucoin, J.-P. Environmental impact of CCA poles in service. *Proceedings of the 28th annual meeting of the International Research Group on Wood Preservation*, Section 5, Environmental aspects; Whistler, BC, Canada, May 26-30, 1997; pp 1-20.
- (7) Stilwell, D. E.; Gorny, K. D. Contamination of soil with copper, chromium, and arsenic under decks built from pressure treated wood. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1997**, *58*, 22-29.
- (8) Belluck, D. A.; Benjamin, S. L.; Baveye, P.; Sampson, J.; Johnson, B. Widespread arsenic contamination of soils in residential areas and public spaces: an emerging regulatory or medical crisis? *International Journal of Toxicology* **2003**, *22*, 109-128.
- (9) Kwon, E.; Zhang, H.; Wang, Z.; Jhangri, G. S.; Lu, X.; Fok, N.; Gabos, S.; Li, X.-F.; Le, X. C. Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds. *Environ. Health Perspect.* **2004**, *112*, 1375-1380.

- (10) Calabrese, E. J.; Barnes, R.; Stanek III, E. J.; Pastides, H.; Gilbert, C. E.; Veneman, P.; Wang, X.; Lasztity, A.; Kostecki, P. T. How much soil do young children ingest: an epidemiologic study. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **1989**, *10*, 123-137.
- (11) Rodriguez, R. R.; Basta, N. T.; Casteel, S. W.; Pace, L. W. An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 642-649.
- (12) Rodriguez, R. R.; Basta, N. T.; Casteel, S. W.; Armstrong, F. P.; Ward, D. C. Chemical extraction methods to assess bioavailable arsenic in soil and solid media. *J. Environ. Qual.* **2003**, *32*, 876-884.
- (13) Hemond, H. F.; Solo-Gabriele, H. M. Children's exposure to arsenic from CCA-treated wooden decks and playground structures. *Risk Analysis* **2004**, *24*, 51-64.
- (14) Ruby, M. V.; Schoof, R.; Brattin, W.; Goldade, M.; Post, G.; Harnois, M.; Mosby, D. E.; Casteel, S. W.; Berti, W.; Carpenter, M.; Edwards, D.; Cragin, D.; Chappell W. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environ. Sci. Technol.* **1999**, *33*, 3697-3705.
- (15) Ellickson, K. M.; Meeker, R. J.; Gallo, M. A.; Buckley, B. T.; Liroy, P. J. Oral bioavailability of lead and arsenic from a NIST standard reference soil material. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2001**, *40*, 128-135.
- (16) Oomen, A. G.; Hack, A.; Minekus, M.; Zeijdner, E.; Cornelis, C.; Schoeters, G.; Verstraete, W.; Van De Wiele, T.; Wragg, J.; Rompelberg, C. J. M.; Sips, A. J. A. M.; Van Wijnen, J. H. Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36*, 3326-3334.
- (17) USEPA. United States Environmental Protection Agency. *Test methods for evaluating solid wastes*, SW-846, 3rd ed.; U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 1986.

- (18) Dubé, E. M.; Petito Boyce, C.; Beck, B. D.; Lewandowski, T.; Schettler, S. Assessment of potential human health risks from arsenic in CCA-treated wood. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **2004**, *10*, 1019-1067.
- (19) Basta, N. T.; Casteel, S. W.; Rodriguez, R. R. Final report: Development of chemical methods to assess the bioavailability of arsenic in contaminated media, 2001. http://cfpub.epa.gov/ncer_abstracts/index.cfm/fuseaction/display.abstractDetail/abstract/676/report/F (accessed June 2005).
- (20) Ruby, M. V.; Davis, A.; Schoof, R.; Eberle, S.; Sellstone, C. M. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, *30*, 422-430.
- (21) Chappell, J.; Chiswell B.; Olszowy, H. Speciation of arsenic in a contaminated soil by solvent extraction. *Talanta* **1995**, *42*, 323-329.
- (22) Dobran, S.; Zagury, G. J. Arsenic speciation and mobilization in CCA-contaminated soils: influence of organic matter content. *Sci. Total Environ.* [Online] **2005**.
- (23) Chen, M.; Ma, L. Q. Comparison of four USEPA digestion methods for trace metal analysis using certified and Florida soils. *J. Environ. Qual.* **1998**, *27*, 1294-1300.
- (24) Basta, N. T.; Rodriguez, R. R.; Casteel, S. W. Arsenic exposure by soil ingestion pathway. In *Environmental chemistry of arsenic*; Marcel Dekker: New York, 2002; Chapter 5.
- (25) Yang, J.-K.; Barnett, M. O.; Zhuang, J.; Fendorf, S. E.; Jardine, P. M. Adsorption, oxidation, and bioaccessibility of As(III) in soils. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 7102-7110.
- (26) Hamel, S. C.; Ellickson, K. M.; Liroy, P. J. The estimation of the bioaccessibility of heavy metals in soils using artificial biofluids by two novel methods: mass-balance and soil recapture. *Sci. Total Environ.* **1999**, *243/244*, 273-283.
- (27) Oomen, A. G.; Rompelberg, C. J. M.; Van De Kamp, E.; Pereboom, D. P. K. H.; De Zwart, L. L.; Sips, A. J. A. M. Effect of bile type on the bioaccessibility of

- soil contaminants in an in vitro digestion model. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2004**, *46*, 183-188.
- (28) ASTM D 4972-95a. *Annu. Book ASTM Stand.* **1997**, Section IV, Volume 04.09.
 - (29) Karam, A. Chemical properties of organic soils. In *Soil sampling and methods of analysis*; Lewis Publishers: Boca Raton, FL, 1993; pp 459-471.
 - (30) ASTM D 422-63, D 1140-92 and D 2216-92. *Annu. Book ASTM Stand.* **1997**, Section IV, Volume 04.08.
 - (31) Chapman, H. D. Cation exchange capacity. In *Methods of soils analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties*; American Society of Agronomy, Madison, WI, 1965; pp 891-901.
 - (32) Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec. *Solides – Détermination du carbone inorganique total, dosage par spectrophotométrie IR. Méthode MA.410C1.0* ; Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec: Québec, QC, Canada, 1996.
 - (33) CEAEQ. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. *Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon. MA.200-Mét.1.1*; Ministère de l'Environnement du Québec: Québec, QC, Canada, 2004; p 37.
 - (34) *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed.; Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., Eaton, A. D., Eds.; American Public Health Association: Washington, DC, 1998.
 - (35) Chao, T. T.; Zhou, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1983**, *47*, 225-232.
 - (36) USEPA. United States Environmental Protection Agency. *Exposure factors handbook. Volume I: General factors; Volume III: Activity factors*. EPA/600/P-95/002Fa; EPA/600/P-95/002Fc. Office of Research and Development, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 1997.

- (37) Statistica, version 7; data analysis software system; StatSoft, Inc.: Tulsa, OK, 2004.
- (38) Pantisar-Kallio, M.; Manninen, P. K. G. Speciation of mobile arsenic in soil samples as a function of pH. *Sci. Total Environ.* **1997**, *204*, 193-200.
- (39) Ministère de l'Environnement du Québec. *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés*; Les publications du Québec: Québec, QC, Canada, 1999.
- (40) Fendorf, S.; La Force, M. J.; Li, G. Temporal changes in soil partitioning and bioaccessibility of arsenic, chromium, and lead. *J. Environ. Qual.* **2004**, *33*, 2049-2055.
- (41) Hingston, J. A.; Collins, C. D.; Murphy, R. J.; Lester, J. N. Leaching of chromated copper arsenate wood preservatives: a review. *Environ. Pollut.* **2001**, *111*, 53-66.
- (42) Khan, B. I.; Solo-Gabriele, H. M.; Dubey, B. K.; Townsend, T. G.; Cai, Y. Arsenic speciation of solvent-extracted leachate from new and weathered CCA-treated wood. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 4527-4534.
- (43) Katz, S. A.; Salem, H. Chemistry and toxicology of building timbers pressure-treated with chromated copper arsenate: a review. *Journal of Applied Toxicology* **2005**, *25*, 1-7.
- (44) Nico, P. S.; Fendorf, S. E.; Lowney, Y. W.; Holm, S. E.; Ruby, M. V. Chemical structure of arsenic and chromium in CCA-treated wood: implications of environmental weathering. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 5253-5260.
- (45) ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Minimal Risk Levels, December 2004. http://www.atsdr.cdc.gov/mrllist_12_04.pdf (accessed July 2005).

Table 3.1: Total arsenic content (mg/kg) of 3 standard reference materials following different digestion methods

Reference material	Certified value	10 M HCl [†]	8 M HNO ₃ / 2 M HCl [†]	HNO ₃ / HF / HClO ₄ [†]
SRM 2710 [‡]	626 ± 38	573 ± 6 (92)	538 ± 12 (86)	567 ± 27 (91)
SRM 2711 [‡]	105 ± 8	-	95 ± 5 [¶] (90)	-
CRM 025 [*]	339 ± 51	311 ± 9 (92)	319 ± 12 (94)	300 ± 21 (88)

[†] Mean value ± standard deviation (n = 3)

[‡] : soil < 74 µm

^{*} : soil < 2 mm

[¶] n = 2

(values) : recovery percentage calculated using certified value (%)

Table 3.2: Physicochemical properties of soils (< 2 mm) collected near 12 CCA-treated utility poles and SRM soil samples.

Soil	Type	Sand (%)	Fines (%) [*]	pH [†]	Total volatile solids (%) [‡]	CEC (meq/100g) [†]	Total organic carbon (%)
1A	Loam	21.9	37.3	6.10 ± 0.21 [‡]	7.0 ± 0.9	17.3 ± 3.1	2.6
1B	Loam	23.8	49.9	6.17 ± 0.37 [‡]	5.5 ± 1.9	29.8 ± 6.4	1.5
1C	Silt loam	16.8	53.9	6.37 ± 0.28 [‡]	5.9 ± 1.8	23.0 ± 0.3	2.8
2A	Organic	40.4	37.1	7.13 ± 1.52 [‡]	58 ± 30	286 ± 12	20
2B	Organic	51.2	37.7	7.17 ± 0.51 [‡]	50 ± 30	324 ± 35	37
2C	Organic	50.0	42.2	6.20 ± 0.47 [‡]	59 ± 44	137 ± 6.9	40
3A	Sand	85.9	13.7	6.18 ± 0.45	3.1 ± 3.0	28.8 ± 2.5	2.5
3B	Sandy loam	47.4	26.0	6.35 ± 0.43	2.6 ± 2.6	25.5 ± 3.4	2.3
3C	Sand	82.0	12.0	6.62 ± 0.30	2.0 ± 1.1	29.7 ± 3.2	2.1
4A	Sandy loam	45.8	26.0	6.64 ± 1.38	4.9 ± 1.8	38.4 ± 4.4	5.4
4B	Loamy sand	62.0	12.3	5.47 ± 0.49	7.7 ± 4.6	53.1 ± 2.0	6.1
4C	Sandy loam	43.2	39.9	5.27 ± 0.21	8.0 ± 3.7	42.5 ± 5.2	5.6
Mean		47.5	32.3	6.31	18	86.3	11
Std deviation		21.6	14.3	0.56	23	107	14
Minimum		16.8	12.0	5.27	2.0	17.3	1.5
Maximum		85.9	53.9	7.17	59	324	40
SRM 2710	- §	0.0	100	5.20 ± 0.02 [‡]	-	-	3.2 ± 0.1 [‡]
SRM 2711	-	0.0	100	8.00 ± 0.01 [‡]	-	-	1.3 ± 0.0 [‡]

^{*} fine particles (< 50 µm) except for the SRM samples: < 74µm

[†] Mean value ± standard deviation (n = 3)

[‡] Mean value ± standard deviation (n = 2)

§ - : Not determined

Table 3.3: Fractionation of arsenic in soils (< 300 µm) collected near 12 CCA-treated poles in service

Soil	Total As by 10 M HCl (mg/kg) [†]	Total As by 8 M HNO ₃ and 2 M HCl (mg/kg) [†]	Water- soluble As (%) [†]	Hydroxylami- ne hydrochlo- ride-extracta- ble As (%) [†]	As (III) (%) [‡]
1A	220 ± 9	225 ± 6	1.2 ± 0.1	98 ± 3	< 0.5
1B	121 ± 0	131 ± 0	1.2 ± 0.1	96 ± 1	< 0.7
1C	23.0 ± 0.1	58.0 ± 2.1	1.0 ± 0.1	99 ± 4	< 1.1
2A	190 ± 8	219 ± 6	15 ± 1	93 ± 3	< 2.0
2B	72.0 ± 2.5	172 ± 19	22 ± 2	79 ± 9	< 2.3
2C	118 ± 2	153*	35*	94 ± 0	< 2.1
3A	154 ± 5	144 ± 6	2.6 ± 0.1	108 ± 10	< 1.1
3B	37.3 ± 1.5	37.4 ± 2.5	1.3 ± 0.2	98 ± 9	< 0.8
3C	213 ± 6	231 ± 17	4.1 ± 0.4	96 ± 9	< 1.2
4A	219 ± 7	251 ± 12	1.4 ± 0.1	98 ± 5	< 1.0
4B	154 ± 5	173 ± 10	2.1 ± 0.1	95 ± 6	< 1.1
4C	220 ± 6	238 ± 6	2.1 ± 0.1	99 ± 3	13.2 ± 0.6
Mean	145	169	7.4	96	-
Std dev	72	69	11	7	-
Min	23.0	37.4	1.0	79	< 0.5
Max	220	251	35	108	13.2

[†] Mean value ± standard deviation (n = 3)

[‡] Duplicate soil samples (< 2 mm). As(III) was always below detection limit (1 µg/L) except for soil sample 4C.

* n = 1

Table 3.4: Bioaccessible arsenic in surface soils (< 300 µm) collected near 12 CCA-treated utility poles and in certified soil samples

Soil	Type	Bioaccessible As (gastric) (%) [†]	Bioaccessible As (intestinal) (%) [†]
1A	Loam	25.7 ± 3.0	28.3 ± 2.2
1B	Loam	24.2 ± 2.9	26.8 ± 2.8
1C	Silt loam	20.7 ± 2.9	25.0 ± 2.7
2A	Organic	56.2 ± 4.7	59.1 ± 7.0
2B	Organic	41.7 ± 3.8	46.7 ± 2.8
2C	Organic	63.6 ± 1.2	66.3 ± 2.3
3A	Sand	40.5 ± 3.4	47.7 ± 0.8
3B	Sandy loam	42.7 ± 2.2	51.2 ± 2.5
3C	Sand	46.3 ± 0.6	53.5 ± 1.3
4A	Sandy loam	26.4 ± 1.1	30.9 ± 1.3
4B	Loamy sand	23.0 ± 1.9	27.1 ± 2.6
4C	Sandy loam	23.5 ± 1.0	25.9 ± 0.5
Mean		36.2	40.7
Std deviation		14.4	14.9
Minimum		20.7	25.0
Maximum		63.6	66.3
SRM 2710	-	27.6 ± 0.4	25.2 ± 0.3
SRM 2711	-	45.7 ± 6.3	43.0 ± 5.6
CRM 025	Sandy Loam	71.3 ± 3.7	64.8 ± 5.2

[†] Mean value ± standard deviation (n = 3)

CHAPITRE IV

BIOACCESSIBILITÉS DU CHROME ET DU CUIVRE

4.1 Matériels et méthodes

La méthodologie utilisée pour l'estimation de la bioaccessibilité du chrome et du cuivre est la même que celle utilisée pour l'arsenic (cf. 3.5.5), bien qu'elle n'ait pas été validée au moyen d'études *in vivo* pour ces deux métaux. Les échantillons testés sont les mêmes que précédemment : douze sols prélevés au pied de poteaux traités à l'ACC-C/PA en service depuis 18 mois, ainsi que trois sols certifiés (SRM 2710, SRM 2711 et CRM 025). La bioaccessibilité du cuivre dans le sol CRM 025 n'a pas été évaluée en raison de sa trop faible teneur en cuivre ($6,4 \pm 0,6$ mg/kg).

Cependant, quelques manipulations diffèrent entre les analyses pour le chrome et le cuivre et celles pour l'arsenic. Seulement deux méthodes de digestion des sols ont été testées sur les sols de référence pour évaluer le chrome et le cuivre totaux dans les sols. Il s'agit de la méthode utilisant un mélange acide nitrique (HNO_3) 8 M – acide chlorhydrique (HCl) 2 M, développée par le Centre d'Expertise en Analyses Environnementales du Québec (CEAEQ, 2004), ainsi que de la méthode utilisant un mélange d'acides nitrique (HNO_3), fluorhydrique (HF) et perchlorique (HClO_4), selon Clesceri *et al.* (1998) (cf. 3.5.3).

De plus, une partie du fractionnement du chrome et du cuivre a été déterminée en duplicata sur les échantillons de sol < 2 mm dans le cadre du projet industriel (Zagury *et al.*, 2004). Le chrome (respectivement le cuivre) soluble et échangeable, fraction la plus mobile dans le sol, a été déterminé d'après la méthode développée par Zagury (1997). En résumé, 1,4 g de sol sont placés dans un tube à centrifugation en PPCO de 40 mL et sont mélangés à 8 mL de solution de chlorure de magnésium (MgCl_2) 1 M

ajustée à pH 7. Puis le tube est agité pendant 1 h au Wrist Action, et centrifugé pendant 30 min à 12 000 g. Le surnageant est prélevé et conservé à 4°C avant analyse par ICP-MS. Ensuite, 8 mL d'eau déionisée sont ajoutés, le tube est agité manuellement pendant 30 s, centrifugé pendant 30 min à 12 000 g. Le surnageant est prélevé et conservé à 4°C avant analyse par ICP-MS.

4.1 Résultats et discussion : le chrome

4.1.1 Chrome total et chrome soluble

4.1.1.1 Comparaison des digestions

Les deux méthodes testées se sont révélées précises, mais leurs justesses différaient selon le sol testé (Tableau 4.1). En effet, la digestion « total-total » ($\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{HClO}_4$) extrait significativement plus de chrome dans le SRM 2710 que la digestion « total-recoverable ». Une précédente étude a montré des résultats similaires sur des sols de référence type SRM (Chen et Ma, 1998). Cependant, le CRM 025 a réagi différemment, la méthode utilisant le mélange HNO_3 8 M + HCl 2 M permet une meilleure récupération ($p < 0,02$) du chrome (94 % vs 70 %). La justesse et l'efficacité de la méthode de digestion dépendent du type de sol testé.

La bioaccessibilité des sols prélevés au pied des poteaux et des sols certifiés a été calculée avec les concentrations de chrome déterminées par digestion avec le mélange HNO_3 8 M + HCl 2 M.

Tableau 4.1 : Chrome total dans les sols de référence par différentes méthodes de digestion (mg/kg)

Sol	Valeurs certifiées	HNO ₃ 8M / HCl 2 M [§]	HNO ₃ / HF / HClO ₄ [§]
SRM 2710 [¶]	39 [°]	11,2 ± 0,0 (29)	23,0 ± 1,9 (59)
CRM 025 [*]	441 ± 50	414 ± 12 (94)	310 ± 42 (70)

[§] : moyenne ± écart-type (n = 3)

[¶] : sol < 74 µm

^{*} : sol < 2 mm

[°] : valeur non certifiée par le NIST

(valeur) : pourcentage de récupération par rapport à la valeur certifiée

4.1.1.2 Teneur en chrome dans les sols

La concentration en chrome dans les 12 sols tamisés (< 300 µm) échantillonnés varie entre $26,4 \pm 2,1$ et 394 ± 53 mg/kg (Tableau 4.2), avec une valeur moyenne de 150 ± 119 mg/kg. La teneur en chrome total dans les sols (< 2 mm) s'échelonne de 43 à 430 mg/kg, avec une valeur moyenne de 136 ± 129 mg/kg. La concentration maximale est un peu plus élevée que le critère B du Québec (250 mg/kg), alors que la moyenne ne le dépasse pas. Les sols les plus contaminés sont les sols organiques (site 2) (337 mg/kg en moyenne) ($p < 0,005$). Les trois autres sites (1, 3 et 4) ont des contaminations statistiquement équivalentes (en moyenne, 86, 65 et 113 mg/kg respectivement). Quel que soit le type de sol étudié (sableux, limoneux ou organique), la contamination au chrome reste faible. De tels résultats étaient prévisibles puisque le chrome est utilisé dans l'ACC en tant qu'agent fixateur. Il ne se lixivie donc que très peu. Des résultats similaires ont été obtenus dans de précédentes études (Zagury *et al.*, 2003a ; Stilwell et Gorny, 1997). De plus, ces mêmes études ont déjà montré que la concentration du chrome décroît très vite lorsque la distance radiale ou la profondeur augmentent. La contamination par le chrome des sols collés aux poteaux n'est donc pas du tout problématique.

**Tableau 4.2 : Fractionnement et bioaccessibilité du chrome dans les sols
($< 300 \mu\text{m}$) prélevés au pied de poteaux traités à l'ACC-C/PA**

Sol	Type	Silt	Chrome total [§]	Cr	Cr	Cr
				extrait par MgCl ₂ [*]	bioacces- sible gas- trique [§]	bioacces- sible intestinal [§]
				----- % -----		
		%	mg/kg			
1A	Terreau	25,1	138 ± 6	0,70	17 ± 2	7,7 ± 2,1
1B	Terreau	32,1	77,6 ± 1,0	2,26	10 ± 3	3,2 ± 1,6
1C	Terreau silteux	36,5	42,8 ± 2,1	5,72	2,8 ± 4,9	3,4 ± 0,1
2A	Organique	35,7	334 ± 19	1,20	4,9 ± 2,1	1,7 ± 1,8
2B	Organique	31,2	394 ± 53	0,85	2,3 ± 0,6	0,4 ± 0,0
2C	Organique	37,7	283	1,76	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
3A	Sable	11,2	67,4 ± 3,6	2,42	24 ± 4	11 ± 5
3B	Terreau sableux	17,8	26,4 ± 2,1	2,50	55 ± 21	33 ± 18
3C	Sable	11,1	101 ± 8	1,85	31 ± 6	24 ± 8
4A	Terreau sableux	15,7	104 ± 7	2,38	32 ± 18	11 ± 5
4B	Sable limoneux	10,8	122 ± 0	2,10	11 ± 1	5,3 ± 2,5
4C	Terreau sableux	30,4	112 ± 0	2,29	18 ± 8	8,3 ± 5,3
	Moyenne	24,6	150	2,17	17	9,1
	Ecart-type	10,6	119	1,28	16	10
	Minimum	10,8	26,4	0,70	0,0	0,0
	Maximum	37,7	394	5,72	55	33
SRM 2710[¶]	-	-	11,2 ± 0,0	-	72 ± 69	13 ± 0
SRM 2711[¶]	-	-	12,0 ± 0,0	-	31 ± 6	26 ± 3
CRM 025	Terreau sableux	-	563 ± 16	-	28 ± 2	11 ± 3

[§] : moyenne ± écart-type (n = 3)

^{*} : échantillons en duplicata ; sol $< 2 \text{ mm}$ (données provenant de Zagury *et al.*, 2004)

[¶] : sol $< 74 \mu\text{m}$

D'autre part, la teneur en chrome dans les sols est hautement corrélée à la teneur en carbone organique total (COT) ($r^2 = 0,80$; $p < 0,001$; $n = 12$). Ceci confirme des travaux antérieurs sur des sols contaminés artificiellement à l'ACC (Balasoïu *et al.*, 2001). La concentration en chrome est aussi positivement corrélée à la capacité d'échange cationique (CEC) ($r^2 = 0,89$; $p < 0,001$), qui augmente elle-même avec le COT.

4.1.1.3 Chrome soluble et échangeable

Le chrome soluble et échangeable (extrait par chlorure de magnésium), qui correspond à la fraction de chrome la plus mobile dans les sols, est faible quel que soit le type de sol testé, et oscille de 0,70 à 5,72 % (Tableau 4.2). La fraction soluble et échangeable est minimale dans les sols organiques (1,27 % en moyenne), mais elle n'est pas pour autant corrélée au COT ($p = 0,21$). La mobilité du chrome dans les sols ne semble donc pas liée uniquement à la présence de matière organique. Des résultats comparables ont été observés par Balasoïu *et al.* (2001) sur des sols contaminés artificiellement à l'ACC.

4.1.2 Bioaccessibilité du chrome

Le chrome bioaccessible gastrique varie entre $0,0 \pm 0,0$ et 55 ± 21 %. A la fin de la phase intestinale, la bioaccessibilité du chrome a diminué de 8,3 % en moyenne, et s'échelonne de $0,0 \pm 0,0$ à 33 ± 18 %, avec une valeur moyenne de $9,06 \pm 10,03$ %. L'évolution entre les deux phases est donc inverse par rapport à ce qui se produit pour l'arsenic. La bioaccessibilité intestinale maximale est observée dans les sols sableux du site 3 (en moyenne 23 %) et, à l'inverse de l'arsenic, elle est minimale dans les sols organiques (site 2) (0,7 % en moyenne). La bioaccessibilité du chrome est en fait faiblement corrélée au COT ($r^2 = 0,26$; $p = 0,09$; $n = 12$). Malgré le fait qu'aucune étude de bioaccessibilité du chrome n'ait encore été réalisée sur des sols contaminés à

l'ACC, ce résultat a déjà été observé dans de précédentes études sur des sols contaminés artificiellement (Skowronski *et al.*, 2001 ; Stewart *et al.*, 2003b).

De plus, la bioaccessibilité du chrome est fonction de la texture du sol : le chrome bioaccessible est négativement corrélé à la teneur en silt ($r^2 = 0,39$; $p < 0,05$; $n = 12$). L'importance de la texture du sol a déjà été un peu explorée précédemment (sur des sols contaminés artificiellement). Skowronski *et al.* (2001) ont trouvé une bioaccessibilité du Cr(III) plus élevée dans un sol sableux que dans un sol argileux, et pas de différence entre les bioaccessibilités du Cr(VI) (pour des sols contaminés artificiellement et conservés à température ambiante). Stewart *et al.* (2003a) ont trouvé une corrélation positive entre bioaccessibilité du Cr(III) et teneur en argile dans des sols contaminés artificiellement au Cr(III). Ces résultats sont donc différents de ceux de la présente recherche, mais les contaminations sont également différentes, ils permettent seulement de confirmer que la texture du sol est un paramètre influant sur la bioaccessibilité du chrome.

D'autre part, la biodisponibilité orale du chrome dépend grandement de sa valence, la forme hexavalente étant plus rapidement absorbée que la trivalente (Kelley *et al.*, 2002). La bioaccessibilité du chrome hexavalent est très influencée par la réduction du Cr(VI) en Cr(III) dans l'extrait gastrique (Stewart *et al.*, 2003b). En effet, en présence de matière organique et sous conditions acides, le Cr(VI) est réduit en Cr(III), et le Cr(III) résultant est fortement lié à la phase solide du sol, et ainsi très peu soluble et bioaccessible (Hamel *et al.*, 1998 ; Skowronski *et al.*, 2001 ; Stewart *et al.*, 2003b). Or, d'après une précédente étude sur le fractionnement du chrome dans des sols contaminés par des poteaux traités à l'ACC-C/PEG, il a été observé que la majeure partie du chrome dans les sols adjacents aux poteaux était liée aux hydroxydes de fer et manganèse (47,8 % en moyenne, s'échelonnant de 23,2 à 68,6 % ($n = 18$)), et dans la fraction résiduelle (38,6 % en moyenne, s'échelonnant de 18,8 à 71,7 % ($n = 18$)) (Deschênes *et al.*, 2000). Des résultats similaires ont été observés sur des sols

contaminés artificiellement à l'ACC (Balasoiu *et al.*, 2001). Ainsi, on peut en déduire que dans les sols de la présente étude, au moins la moitié du chrome est sous forme hexavalente, et qu'en phase gastrique, en présence de matière organique, cette fraction sera réduite en Cr(III) peu bioaccessible, ce qui peut expliquer les très faibles pourcentages de bioaccessibilité des sols du site 2.

Les précédentes études sur la bioaccessibilité du chrome (évaluée avec le PBET) disponibles dans la littérature ne mesurent que la bioaccessibilité gastrique (Skowronski *et al.*, 2001 ; Stewart *et al.*, 2003a, 2003b). Leurs valeurs de bioaccessibilité sont donc très élevées par rapport à ceux observés ici :

- ◆ Skowronski *et al.* (2001) : 18 à 72 % ;
- ◆ Stewart *et al.* (2003a) : 3,0 à 54,7 % ;
- ◆ Stewart *et al.* (2003b) : ~10 à ~70 %.

Malheureusement, ces valeurs ne sont pas utilisables, car le processus d'absorption du métal par le système sanguin ne se fait qu'en phase intestinale (Ellickson *et al.*, 2001). Il a d'ailleurs été observé que la bioaccessibilité du chrome est mieux évaluée à l'aide d'une incubation séquentielle phase gastrique – phase intestinale (Kelley *et al.*, 2002). Leurs valeurs sont donc surestimées au vu de la diminution de la bioaccessibilité entre les deux phases. N'évaluer que le chrome bioaccessible gastrique permet de ne pas sous estimer la bioaccessibilité du chrome, mais ne reflète absolument pas les conditions réelles (i.e. dans l'organisme). En effet, une étude de la biodisponibilité de chrome trivalent sur des rats a montré des pourcentages de biodisponibilité orale (in vivo) beaucoup plus faibles : Witmer *et al.* (1991) ont trouvé des pourcentages de récupération de chrome total (après ingestion de sol contaminé par les rats) inférieurs à 50 %, avec des valeurs de chrome dans les tissus de moins de 2 % de la dose administrée (par analyse du chrome total après sacrifice des animaux). Enfin, d'après Kelley *et al.* (2002), les composés de chrome trivalent non alimentaires ont des biodisponibilités proches de 1 %, et seulement 10 % environ du chrome hexavalent ingéré est absorbé. Nos pourcentages de chrome bioaccessibles obtenus in vitro sont

donc beaucoup plus proches de valeurs in vivo que les pourcentages in vitro trouvés dans la littérature existante.

L'étude de la biodisponibilité orale in vitro du chrome montre donc que ce métal présente peu de risque potentiel par voie d'exposition orale dans une contamination par l'ACC au pied de poteaux traités, étant donné le fait que : (1) les concentrations dans les sols sont faibles, (2) que le pourcentage moyen de chrome bioaccessible (9 %) est peu élevé, et (3) que même si le chrome est sous forme hexavalente dans les sols, il a tendance à être réduit sous conditions acides (conditions stomacales) et à devenir peu bioaccessible.

4.2 Résultats et discussion : le cuivre

4.2.1 Cuivre total et cuivre soluble

4.2.1.1 Comparaison des digestions

A l'inverse du chrome, la méthode de digestion la plus juste (celle ayant les meilleurs pourcentages de récupération, $p < 0,06$) est la même pour le SRM 2710 et pour le CRM 025 (Tableau 4.3). Il s'agit de la digestion par $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$. La digestion « total-total » ($\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{HClO}_4$) sur le CRM semble erronée et extrait plus de cuivre que la valeur certifiée par le RTC.

La bioaccessibilité des sols prélevés au pied des poteaux et des sols certifiés a été calculée avec les concentrations de cuivre déterminées par digestion avec le mélange HNO_3 8 M + HCl 2 M.

Tableau 4.3 : Cuivre total dans les sols de référence par différentes méthodes de digestion (mg/kg)

Sol	Valeurs certifiées	HNO ₃ 8M / HCl 2 M [§]	HNO ₃ / HF / HClO ₄ [§]
SRM 2710[¶]	2 950 ± 130	2 690 ± 60 (91)	2 400 ± 110 (81)
CRM 025[*]	7,76 ± 1,68	6,4 ± 0,6 (82)	13,4 ± 4,7 (173)

[§] : moyenne ± écart-type (n = 3)

[¶] : sol < 74 µm

^{*} : sol < 2 mm

(valeur) : pourcentage de récupération par rapport à la valeur certifiée

4.2.1.2 Teneur en cuivre dans les sols

La concentration en cuivre dans les 12 sols < 300 µm échantillonnés s'échelonne de 95,6 ± 4,5 à 3 580 ± 680 mg/kg (Tableau 4.4), avec une valeur moyenne de 1 215 ± 1 020 mg/kg. La concentration en cuivre dans les sols < 2 mm varie de 210 à 4 300 mg/kg, avec une valeur moyenne de 1 195 ± 1 240 mg/kg. La concentration maximale est 7 fois plus élevée que le critère C (800 mg/kg) du Québec, alors que la moyenne 1,5 fois plus élevée. Ces valeurs peuvent paraître très élevées mais, tout comme les contaminations dues à l'arsenic et au chrome, la contamination au cuivre décroît fortement avec la distance et la profondeur : à 25-50 cm autour du poteau ou dès 50 cm de profondeur adjacent au poteau, on retrouve des valeurs de bruit de fond ou inférieures au critère B (Cooper *et al.*, 1997 ; Zagury *et al.*, 2003a).

Les sols les plus contaminés sont les sols organiques (2 650 mg/kg en moyenne) et les moins contaminés sont les sols sableux (site 3) (504 mg/kg en moyenne) et les terreux (site 1) (577 mg/kg en moyenne), statistiquement identiques. Des résultats similaires ont été obtenus précédemment, sur des sols adjacents à des poteaux traités à l'ACC-C/PEG (Cooper *et al.*, 1997).

**Tableau 4.4 : Fractionnement et bioaccessibilité du cuivre dans les sols (< 300 µm)
prélevés au pied de poteaux traités à l'ACC-C/PA**

Sol	Type	Silt	Cuivre total [§]	Cu extrait par MgCl ₂ *	Cu bioacces- sible gastrique [§]	Cu bioacces- sible intestinal [§]
		%	mg/kg	-----	%	-----
1A	Terreau	25,1	944 ± 15	1,42	60,9 ± 6,2	59,0 ± 2,6
1B	Terreau	32,1	598 ± 12	17,2	63,7 ± 7,7	55,7 ± 4,8
1C	Terreau silteux	36,5	189 ± 6	63,9	46,9 ± 7,1	40,5 ± 0,8
2A	Organique	35,7	2 730 ± 165	0,13	49,0 ± 9,0	30,2 ± 4,8
2B	Organique	31,2	3 580 ± 680	0,03	25,2 ± 0,7	20,7 ± 1,3
2C	Organique	37,7	1 635	1,50	25,4 ± 1,7	19,4 ± 3,6
3A	Sable	11,2	530 ± 32	15,6	94,4 ± 7,8	89,4 ± 4,9
3B	Terreau sableux	17,8	95,6 ± 4,5	15,6	89,4 ± 11,6	88,5 ± 11,8
3C	Sable	11,1	886 ± 81	6,85	74,1 ± 1,7	73,8 ± 0,5
4A	Terreau sableux	15,7	1 050 ± 60	33,8	66,8 ± 0,5	62,2 ± 0,7
4B	Sable limoneux	10,8	1 120 ± 0	41,9	65,1 ± 3,8	58,1 ± 6,0
4C	Terreau sableux	30,4	1 220 ± 0	24,3	60,8 ± 2,0	51,4 ± 1,6
	Moyenne	24,6	1 215	18,5	60,1	54,1
	Ecart-type	10,6	1 020	19,8	21,4	23,4
	Minimum	10,8	95,6	0,03	25,2	19,4
	Maximum	37,7	3 580	63,9	94,4	89,4
SRM 2710[¶]	-	-	2 690 ± 60	-	55,6 ± 0,9	46,5 ± 2,8
SRM 2711[¶]	-	-	93,0 ± 1,2	-	34,1 ± 2,8	20,7 ± 1,5

[§] : moyenne ± écart-type (n = 3)

* : échantillons en duplicata ; sol < 2 mm (données provenant de Zagury *et al.*, 2004)

[¶] : sol < 74 µm

D'autre part, la teneur en cuivre dans les sols est corrélée positivement à la teneur en COT ($r^2 = 0,63$; $p < 0,01$; $n = 12$). Ce résultat n'est pas surprenant étant donné que le cuivre, sous forme de cation dans les sols, est retenu grâce à des échanges ioniques et à une grande affinité pour la matière organique, chargée négativement (McLean et Bledsoe, 1992). Ceci confirme les travaux de Balasoiu *et al.* (2001) sur des sols contaminés à l'ACC artificiellement. La concentration en cuivre est aussi positivement corrélée à la CEC des sols ($r^2 = 0,90$; $p < 0,001$).

4.2.1.3 Cuivre soluble et échangeable

Le cuivre soluble et échangeable varie entre 0,03 et 63,9 % (Tableau 4.4), avec une moyenne de 18,5 %. La fraction soluble et échangeable est minimale dans les sols organiques (0,55 % en moyenne), mais elle n'est pas pour autant corrélée au COT ($p = 0,12$). La mobilité du cuivre dans les sols n'est pas directement liée à la présence de matière organique, même si le cuivre a tendance à se lier à la matière organique. En effet, de précédentes études, menées sur des sols prélevés en zones urbaines, forestières, industrielles ou agricoles, avec des intervalles de contamination allant de « non contaminé » à « très contaminé » (~ 3 000 ppm), ont montré que la fraction facilement soluble et échangeable du cuivre dépend aussi du pH du sol et de la teneur totale en cuivre dans le sol (Sauvé *et al.*, 1997 (68 sols) ; Impellitteri *et al.*, 2003 (41 sols)). Dans le cadre de cette étude, la corrélation entre cuivre total et cuivre soluble et échangeable est cependant très faible ($r^2 = 0,27$; $p = 0,08$; $n = 12$) sur les échantillons prélevés 18 mois après le début de la contamination à l'ACC.

4.2.2 Bioaccessibilité du cuivre

Le cuivre bioaccessible en phase gastrique varie entre $25,2 \pm 0,7$ et $94,4 \pm 7,8$ %. À la fin de la phase intestinale, la bioaccessibilité du cuivre a diminué de 6 % en moyenne, et s'échelonne de $19,4 \pm 3,6$ à $89,4 \pm 4,9$ %, avec une valeur moyenne de

54,1 ± 23,4 %. Comme pour le chrome, la bioaccessibilité diminue en phase intestinale d'une part et, d'autre part, elle est maximale pour le site 3, sableux (en moyenne, 84 %) et minimale pour le site 2, organique (23 %). La bioaccessibilité du cuivre est aussi fonction de la texture du sol, et plus particulièrement de la teneur en silt ($r^2 = 0,65$; $p < 0,01$; $n = 12$). Plus il y a de silt dans le sol, moins le cuivre est bioaccessible.

De plus, la bioaccessibilité du cuivre est corrélée négativement à la teneur en matière organique dans les sols ($r^2 = 0,64$; $p < 0,01$; $n = 12$). Il en va de même avec la CEC ($r^2 = 0,51$; $p < 0,01$). En effet, étant donné que la matière organique est chargée négativement, et que sa CEC est généralement élevée, la matière organique possède beaucoup de sites d'échange, disponibles pour l'adsorption de l'ion Cu^{2+} , qui devient donc moins bioaccessible.

Très peu de travaux ont déjà étudié la bioaccessibilité GI du cuivre dans des sols contaminés (Mercier *et al.*, 2002a ; Chung *et al.*, 2005), et aucune disponible à ce jour n'a étudié la bioaccessibilité du cuivre dans des sols contaminés à l'ACC. Le cuivre est un élément essentiel, et ne présente pas de risque particulier pour la santé humaine sauf à très fortes concentrations (cf. 2.4.4). Or, pour les douze sols contaminés à l'étude, en cas d'ingestion accidentelle de sol, seulement 1,3 µg/kg/j de Cu en moyenne serait dissous dans l'environnement GI (entre 0,2 et 2,5 µg/kg/j). De plus, il faut garder à l'esprit que ces valeurs de prise journalière de contaminant (PJC) ont été déterminées en utilisant des paramètres d'exposition très conservateurs (TI = 100 mg/j, EF = 0,5, FS = 1). Malgré cela, la PJC moyenne pour le cuivre ne représente que 13 % du MRL non carcinogène pour une exposition intermédiaire au cuivre (10 µg/kg/j).

Ainsi, malgré les très fortes concentrations retrouvées dans les sols adjacents aux poteaux traités à l'ACC et les pourcentages de bioaccessibilité très élevés, le cuivre présente très peu de danger pour les enfants qui pourraient potentiellement avaler ces sols contaminés.

CHAPITRE V

DISCUSSION GÉNÉRALE & CONCLUSIONS

Le but de ce projet était d'évaluer la biodisponibilité orale gastro-intestinale in vitro de l'arsenic, du chrome et du cuivre dans des sols prélevés au pied de poteaux de bois en service traités à l'ACC-C/PA, et d'évaluer les principales caractéristiques physico-chimiques des sols intervenant dans la biodisponibilité de ces contaminants.

Pour ce faire, on a utilisé un test d'extraction séquentielle phase gastrique – phase intestinale développé originellement pour la détermination in vitro de la biodisponibilité relative de l'arsenic, la méthode in vitro gastro-intestinale (IVG). De plus, les sols sélectionnés ont été caractérisés afin de connaître les paramètres intervenant dans la bioaccessibilité de l'arsenic, du chrome et du cuivre dans une contamination par l'ACC.

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des sols ($< 300 \mu\text{m}$) ont montré que la contamination au cuivre était la plus importante ($1\,215 \pm 1\,020 \text{ mg/kg}$), suivie des contaminations à l'arsenic ($169 \pm 69 \text{ mg/kg}$) et au chrome ($150 \pm 119 \text{ mg/kg}$). La même tendance a été observée sur les sols $< 2 \text{ mm}$: les concentrations en cuivre étaient les plus élevées ($1\,195 \pm 1\,240 \text{ mg/kg}$), suivies des concentrations en arsenic ($148 \pm 38 \text{ mg/kg}$) et en chrome ($136 \pm 129 \text{ mg/kg}$). Contrairement à ce qui avait été observé dans de précédentes études sur des sols prélevés au pied de poteaux traités à l'ACC/PEG (Cooper *et al.*, 1997 ; Zagury *et al.*, 2003a), les concentrations d'arsenic et de chrome dans les sols ($< 2 \text{ mm}$) prélevés au pied des poteaux traités à l'ACC/PA étaient statistiquement équivalentes ($p = 0,76$; $n = 12$). Il en était de même dans les sols tamisés ($< 300 \mu\text{m}$) ($p = 0,64$). Cependant, les teneurs en chrome ne dépassaient jamais le critère C du Québec, et ne dépassaient le critère B que dans les sols organiques alors que les concentrations en arsenic dépassaient jusqu'à 5 fois le critère

C. Les concentrations en cuivre étaient très élevées (jusqu'à 7 fois le critère C), mais le cuivre n'est pas un métal cancérigène et problématique pour la santé humaine. Seule la contamination à l'arsenic était donc inquiétante étant donné la toxicité de l'arsenic par rapport aux deux autres métaux (c'est le seul contaminant cancérigène pour l'homme parmi les trois composants de l'ACC) et ses fortes concentrations par rapport aux critères génériques de décontamination des sols. Toutefois, il faut mentionner que les concentrations en métaux diminuent très vite avec la distance radiale et la profondeur, et qu'entre 25 et 50 cm de distance autour d'un poteau, on retrouve des concentrations en chrome, cuivre et arsenic sous le critère A (6 mg/kg) ou proches du bruit de fond du site (6 mg/kg pour la présente étude).

Les teneurs en chrome et en cuivre dans les sols étaient hautement corrélées à la teneur en COT du sol ($p < 0,001$). L'arsenic a eu un comportement complètement différent, ses concentrations dans les sols contaminés par l'ACC étaient élevées près des douze poteaux (par rapport aux critères de décontamination de sols) quelle que soit la teneur en matière organique.

La première constatation sur la bioaccessibilité était que le comportement de chaque contaminant différait. Tout d'abord, la bioaccessibilité du chrome était globalement faible, quel que soit le type de sol étudié (9 % en moyenne, variant de 0 à 33 %). Elle ne dépendait pas de la teneur en chrome total des sols. De plus, la bioaccessibilité du chrome augmentait lorsque la teneur en silt dans les sols diminuait.

La bioaccessibilité du cuivre était très élevée par rapport à la bioaccessibilité du chrome, et s'échelonnait de 19 à 89 % avec une valeur moyenne de 54 %. Elle était liée à la présence de matière organique, et plus exactement, elle était inversement proportionnelle à la teneur en COT. Comme pour le chrome, lorsque la fraction de silt dans les sols diminuait, le cuivre devenait plus bioaccessible. La quantité de cuivre bioaccessible était également inversement proportionnelle à la CEC du sol, puisque la

matière organique possède beaucoup de sites d'échange qui permettent l'adsorption des cations de cuivre, ce qui les rend moins disponibles.

Enfin, la bioaccessibilité de l'arsenic était moyenne par rapport aux bioaccessibilités du chrome et du cuivre, s'étalant de 25 à 66 % avec une valeur moyenne de 41 %. Elle était liée à la présence de matière organique, mais à l'inverse du cuivre, elle augmentait avec la teneur en COT. De plus, comme pour le chrome et le cuivre, la bioaccessibilité de l'arsenic dépendait de la texture du sol : elle augmentait significativement en présence de sable dans les sols peu organiques ($r^2 = 0,52$; $p < 0,05$; $n = 9$), mais n'était pas corrélée à la fraction de silt. D'autre part, la bioaccessibilité de l'arsenic dépendait du fractionnement de l'arsenic dans le sol : l'arsenic bioaccessible était positivement corrélé à l'arsenic soluble. Ceci pourrait permettre d'utiliser la solubilité de l'arsenic dans l'eau en tant qu'outil préliminaire pour l'évaluation de la biodisponibilité orale de l'arsenic.

Les bioaccessibilités gastrique et intestinale en mesure absolue (mg contaminant/kg de sol sec) suivaient le même ordre : la bioaccessibilité du cuivre était la plus élevée, suivie par la bioaccessibilité de l'arsenic puis la bioaccessibilité du chrome (Tableau 5.1).

Tableau 5.1 : Bioaccessibilité intestinale des métaux en mg/kg sol sec

Contaminant	Minimale (sol)	Maximale (sol)	Moyenne	Ecart-type
As	14,5 (1C)	129 (2A)	68,4	37
Cr	0 (2C)	24,7 (3C)	7,4	6,6
Cu	76,4 (1C)	825 (2A)	500	246

D'autre part, jusqu'à présent, la méthode IVG a été validée pour la détermination de la biodisponibilité de l'arsenic dans des sols d'origine minière ou résidentielle seulement,

mais pas pour des sols contaminés par l'ACC. Si cette étude n'a pas permis une validation pour une contamination à l'ACC par des tests *in vivo*, elle a cependant montré que la méthode IVG semble juste pour une contamination à l'ACC, car notre valeur *in vitro* (41 % en moyenne) était très proche de la valeur trouvée *in vivo* grâce à des tests sur des porcelets par une autre équipe de recherche (49 % en moyenne).

Ainsi, la bioaccessibilité dépendait non seulement du contaminant, mais aussi du type de sol et du type de contamination. Globalement, la phase intestinale était nécessaire pour les trois métaux. En effet, le processus d'absorption gastro-intestinale chez l'homme se fait principalement à travers la paroi du petit intestin (et non par la paroi stomacale), et d'autre part, selon le contaminant étudié, les changements de conditions GI affectent sa solubilisation.

Finalement, en termes d'exposition, l'ingestion de chrome ne semble présenter que peu de risque pour la santé humaine par voie d'exposition orale à des sols contaminés à l'ACC (voir Tableau 5.2), étant donné le fait que les concentrations dans les sols restaient relativement faibles (par rapport aux critères de décontamination), que le pourcentage moyen de bioaccessibilité (9 %) était très peu élevé, et que même si le chrome était principalement sous forme hexavalente (la plus toxique) dans les sols, il aurait eu tendance à être réduit dans le système GI (conditions gastriques acides favorables) et à devenir ainsi très peu bioaccessible.

Pour le cuivre, malgré de très fortes concentrations dans les sols et de fortes bioaccessibilités par rapport aux deux autres contaminants (54 % en moyenne), il ne présentait qu'un risque très faible pour la santé humaine par voie orale (Tableau 5.2), puisqu'en cas d'ingestion de sol à la base d'un poteau traité à l'ACC-C/PA par un enfant de 2 à 6 ans, la quantité de cuivre libre dans son environnement GI (1,3 µg/kg/j en moyenne) ne représenterait que 13 % du MRL non carcinogène pour une exposition aiguë ou intermédiaire au cuivre (10 µg/kg/j).

Enfin, l'arsenic présentait quant à lui un risque pour la santé humaine très limité (Tableau 5.2), car en cas d'ingestion de sol proche d'un poteau traité à l'ACC-C/PA par un enfant de 2 à 6 ans, seulement 0,18 µg/kg/j d'arsenic en moyenne serait absorbé. Ceci ne représente que 60 % du MRL non carcinogène pour une exposition chronique (0,3 µg/kg/j) et est négligeable devant l'arsenic absorbé par jour via la nourriture et l'eau (6,5 µg/kg/j). De plus, la dose d'arsenic absorbée par ingestion accidentelle de sol (3,1 µg/j) est inférieure à la valeur maximale d'arsenic environnemental recommandée par l'USEPA (4 µg/j).

Tableau 5.2 : Prise journalière moyenne de contaminants et MRLs par voie orale

Contaminant	PJC (µg/kg/j)	MRL (µg/kg/j)	Indice de Danger (%) [†]
As	0,18	0,3 [§]	60
Cr	0,03	-	-
Cu	1,3	10 [*]	13

[†] : ID = PJC / MRL « chronique ». Calculé pour un risque non cancérigène.

[§] : MRL pour une exposition chronique (> 365 j)

^{*} : MRL pour une exposition intermédiaire (14 < j < 364)

Ainsi, les ordres de grandeurs d'ingestion quotidienne de contaminants (cuivre et arsenic) via des sols (sableux, limoneux ou organiques) étaient bien inférieurs aux MRLs pour une exposition orale, et le risque d'observer des effets néfastes ou problématiques sur la santé d'enfants en contact avec des poteaux traités à l'ACC à usage industriel était très limité, et ce même si le contact était très régulier (ou chronique). De plus, quel que soit le contaminant, il faut toujours garder à l'esprit qu'en règle générale, les enfants sont peu exposés à des poteaux de bois traité. Le scénario le plus probable reste l'ingestion de sol contaminé (à l'ACC) près de structures récréatives, et non pas près de structures type poteaux, barrières, ou plateformes.

CHAPITRE VI

RECOMMANDATIONS

Les recommandations pour la suite des travaux sont principalement axées sur l'étude de la spéciation des métaux et sur la caractérisation additionnelle des échantillons de sol testés.

6.1 Validation & spéciation

Du point de vue de la bioaccessibilité, l'une des premières étapes est la validation de la méthode IVG pour l'estimation de la bioaccessibilité du chrome et du cuivre, avec des tests *in vivo* menés en parallèle (comme cela a déjà été réalisé pour l'arsenic). En effet, il est difficile d'affirmer pour le moment que la méthode IVG est valide pour la détermination des bioaccessibilités d'autres métaux que l'arsenic, le plomb et le cadmium (seuls éléments pour lesquels une validation avec tests *in vivo* et *in vitro* en parallèle a été faite). Les données sur le chrome et le cuivre ne sont pour l'instant qu'indicatives.

Ce projet a permis de montrer que dans le cadre d'une contamination par l'ACC, les bioaccessibilités dépendent grandement du type de sol (limoneux, sableux ou organique), et ce quel que soit le métal (chrome, arsenic, ou cuivre). Il serait donc très intéressant d'étendre l'étude à un plus grand nombre de sols ($n > 12$) prélevés sur des sites avec des contaminations d'origines diverses (par exemple, sols résidentiels, sols miniers, sols agricoles) en les caractérisant (texture, teneur en matière organique, et teneur en métaux principalement) afin de mettre en place une base de données qui permettrait d'estimer une bioaccessibilité d'après la caractérisation du sol (sans avoir besoin de refaire le test de bioaccessibilité *in vitro*).

Ensuite, l'estimation de contaminant ingéré par jour par un enfant jouant près d'un poteau à usage industriel n'est pas assez précise. Afin d'affiner ce résultat, il faudrait mener une étude d'exposition spécifique au contact avec des poteaux en bois traité à l'ACC. Jusqu'à présent, les études d'exposition réalisées en rapport avec notre sujet ont été menées pour des enfants jouant sur des structures récréatives en bois traité à l'ACC ou pour une contamination résidentielle à l'ACC.

D'autre part, la toxicité d'un contaminant dépend de sa spéciation (As(III) vs As(V) ; Cr(III) vs Cr(VI)). L'arsenic trivalent et le chrome hexavalent sont reconnus comme étant plus toxiques pour l'homme que l'arsenic pentavalent et le chrome trivalent respectivement. Or actuellement, très peu d'études ont été menées pour déterminer l'influence de la spéciation de l'arsenic et du chrome sur sa biodisponibilité orale, ces quelques études ne concernent que la spéciation dans le sol (avant le test de bioaccessibilité), et elles ont été menées sur des sols contaminés artificiellement. De plus, aucune étude ne concerne la spéciation de l'arsenic ou du chrome dans l'organisme (après test de bioaccessibilité). Il faudrait donc d'abord déterminer s'il y a des changements de spéciation pendant le test de bioaccessibilité, afin de connaître la spéciation des contaminants en phase intestinale (et donc disponibles pour absorption intestinale). Puis, il faudrait déterminer les proportions d'As(III) et de Cr(VI) bioaccessibles par rapport à l'As(III) et au Cr(VI) dans les sols. Ceci permettrait une évaluation de la toxicité (et donc du risque pour la santé humaine) plus précise qu'avec la valeur de bioaccessibilité « totale » du contaminant.

Finalement, il ne faut pas perdre de vue qu'à l'heure actuelle, les réglementations de décontamination des sols ou les recommandations de niveaux minimaux de risque ne tiennent pas forcément compte de la spéciation ou de la biodisponibilité des contaminants métalliques. En effet, au Québec, par exemple, il n'existe pas de critère générique spécifique pour les contaminations de sol au Cr(VI) ou à l'As(III). De même

pour une exposition orale, l'ATSDR ne définit pas de MRL spécifique pour le chrome hexavalent ou pour l'arsenic trivalent. En règle générale, les valeurs prises en compte pour les décontaminations de sol ou les études de risques (écotoxicologiques ou sur la santé humaine) sont les teneurs en métal totales dans les sols. Ainsi, si l'influence de la spéciation sur la bioaccessibilité est déterminée et qu'elle est significative, il faudrait que les critères de décontamination ou les limites d'exposition souhaitées soient révisés, en intégrant, pour les contaminants ayant des formes plus toxiques que d'autres, une limite pour les formes toxiques (dans le cas de l'arsenic par exemple, en plus du critère générique d'arsenic total dans le sol, le Québec pourrait déterminer un critère spécifique pour l'arsenic trivalent). Ces nouveaux critères pourraient être définis grâce à une évaluation des risques d'un site.

6.2 Caractérisation physico-chimique additionnelle

Tout d'abord, il a été remarqué que les bioaccessibilités de l'arsenic et du cuivre (et du chrome dans une moindre mesure) sont liées à la présence de matière organique, et que la bioaccessibilité de l'arsenic est corrélée à la solubilité de l'arsenic dans l'eau. Or, une récente étude (Dobran et Zagury, 2006) sur des sols contaminés artificiellement à l'ACC a montré que le carbone organique dissous (COD) jouait un rôle prépondérant dans la solubilité de l'arsenic, et donnait une meilleure corrélation que le COT avec l'arsenic soluble dans l'eau. Il serait donc intéressant d'évaluer l'influence de ce paramètre sur la bioaccessibilité des métaux (au moins pour l'arsenic).

De plus, l'arsenic et le chrome sont majoritairement sous forme anionique. Or, dans le projet de caractérisation des sols, seule la CEC est évaluée, alors que ce paramètre n'est pas adapté au comportement d'un anion dans les sols. Il faudrait donc mesurer la capacité d'échange anionique (CEA). L'influence de ce paramètre n'a effectivement jamais été étudiée précédemment.

Enfin, il a été remarqué que la bioaccessibilité est fonction du fractionnement de l'arsenic dans les sols. Afin d'en savoir un peu plus, il faudrait réaliser des extractions simples (du type : fraction soluble et échangeable, fraction liée à la matière organique, fraction liée aux oxydes de fer amorphes et de manganèse, fraction liée aux oxydes de fer cristallins, fraction résiduelle) afin de déterminer la fraction de contaminant bioaccessible, comme cela a déjà été tenté, mais avec des réactifs plus spécifiques. Ainsi, par la suite, une extraction chimique plus simple pourrait suffire à déterminer la bioaccessibilité de l'arsenic. De plus, la bioaccessibilité étant fonction de la spéciation des métaux et de la texture des sols, une analyse minéralogique avant et après le test de bioaccessibilité pourrait permettre d'identifier les minéraux bioaccessibles.

CHAPITRE VII

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AMACHER, M.C., KOTUBY-AMACHER, J. 1994. « Selective extraction of arsenic from mine spoils, soils, and sediments ». *1994 Agronomy abstracts*. Madison, WI : ASA. P. 256.

ANDERSEN, S., RASMUSSEN, G., SNILSBERG, P., AMUNDSEN, C.E., WESTBY, T. 1996. « Assessing toxicity and mobilisation of impregnation salts at a contaminated site ». *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 354:676-680.

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2001. Summary report for the ATSDR soil-pica workshop, June 2002, Atlanta, Georgia. In *Site de l'ATSDR*. [En ligne]. <http://www.atsdr.cdc.gov/child/soilpica.html> (Page consultée le 15 juin 2005)

ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2004. Minimal Risk Levels (MRLs) for hazardous substances. In *Site de l'ATSDR*. [En ligne]. <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls.html> (Page consultée le 10 mai 2005)

BALASOIU, C.F., ZAGURY, G.J., DESCHENES, L. 2001. « Partitioning and speciation of chromium, copper, and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition ». *The Science of the Total Environment*. 280:239-255.

BARNHART, J. 1997. « Occurrences, uses, and properties of chromium ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 26:S3-S7.

- BASTA, N.T., CASTEEL, S.W., RODRIGUEZ, R.R. 2001. Development of chemical methods to assess the bioavailability of arsenic in contaminated media. In *Site de l'USEPA*. [En ligne]. http://cfpub.epa.gov/ncer_abstracts/index.cfm/fuseaction/display.abstractDetail/abstract/676/report/F (Page consultée le 26 août 2005)
- BASTA, N.T., RODRIGUEZ, R.R., CASTEEL, S.W. 2002. « Bioavailability and risk of arsenic exposure by the soil ingestion pathway ». *Environmental chemistry of arsenic*. Ed. William T. Frankenberger, Jr. New-York : Marcel Dekker. P. 117-139.
- BELLUCK, D.A., BENJAMIN, S.L., BAVEYE, P., SAMPSON, J., JOHNSON, B. 2003. « Widespread arsenic contamination of soils in residential areas and public spaces: an emerging regulatory or medical crisis? ». *International Journal of Toxicology*. 22:109-128.
- CALABRESE, E.J., BARNES, R., STANEK III, E.J., PASTIDES, H., GILBERT, C.E., VENEMAN, P. *et al.* 1989. « How much soil do young children ingest: an epidemiologic study ». *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 10:123-137.
- CAUSSY, D. 2003. « Case studies of the impact of understanding bioavailability: arsenic ». *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 56:1. 164-173.
- CEAEQ. 2004. *Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à source ionisante au plasma d'argon. MA.200-Mét.1.1.* [En ligne]. Québec, QC : Ministère de l'Environnement du Québec. 37 p. <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA200Met11.pdf> (Page consultée le 2 octobre 2005)
- CHAO, T.T., ZHOU, L. 1983. « Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxides from soils and sediments ». *Soil Science Society of America Journal*. 47:225-232.

- CHEN, M., MA, L.Q. 1998. « Comparison of four USEPA digestion methods for trace metal analysis using certified and Florida soils ». *Journal of Environmental Quality*. 27:6. 1294-1300.
- CHIRENJE, T., MA, L.Q., CLARK, C., REEVES, M. 2003. « Cu, Cr and As distribution in soils adjacent to pressure-treated decks, fences and poles ». *Environmental Pollution*. 124:407-417.
- CHUNG, E.H., LEE, J.-S., CHON, H.-T., SAGER, M. 2005. « Environmental contamination and bioaccessibility of arsenic and metals around the Dongjeong Au-Ag-Cu mine, Korea ». *Geochemistry: Exploration, Environment*. 5:69-74.
- CLESCERI, L.S., GREENBERG, A.E., EATON, A.D. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th edition. Washington, DC : American Public Health Association.
- COOPER, P.A. 1994. « Leaching of CCA: Is it a problem? ». *Environmental considerations in the manufacture, use and disposal of preservative-treated wood*. Madison, WI : Forest Products Society. P. 45-57.
- COOPER, P.A., UNG, Y.T., AUCOIN, J.P. 1997. « Environmental impact of CCA poles in service ». *Proceedings of the 28th Annual Meeting of the International Research Group on Wood Preservation*. Whistler, BC. Section 5: Environmental aspects, P. 1-20.
- COOPER, P.A., JEREMIC, D., UNG, Y.T. 2004. « Effectiveness of CCA fixation to avoid hexavalent chromium leaching ». *Forest Products Journal*. 54:3. 56-58.

CULLEN, W.R., REIMER, K.J. 1989. « Arsenic speciation in the environment ». *Chemical Review*. 89:713-764.

DESCHENES, L., ZAGURY, G.J., SAMSON, R., BUREAU, J., ESTRELA, S., LEDUC, M. 2000. *Recherche et développement d'outils de gestion des sites contaminés adjacents à des poteaux de bois traités au PCP et au CCA (Phase V)*. Rapport final préparé pour Bell Canada par la chaire industrielle CRSNG en assainissement et gestion des sites. Montréal : Ecole Polytechnique de Montréal. 100 p. Projet C.D.T. P2437.

DEVELOPPEMENT DURABLE, ENVIRONNEMENT ET PARCS QUEBEC. 2002a. Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés. In *Site de Développement durable, Environnement et Parc Québec*. [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/politique/chapitres1-2-3.htm>, http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/politique/annexe_2.htm#2.%20Les%20critères%20génériques, http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/politique/annexe_2_tableau_1.htm et http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/politique/annexe_3.htm (Pages consultées le 20 août 2005)

DEVELOPPEMENT DURABLE, ENVIRONNEMENT ET PARCS QUEBEC. 2002b. Protection des sols et réhabilitation des terrains contaminés – Loi et règlements. In *Site de Développement durable, Environnement et Parc Québec*. [En ligne]. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/loi-reg.htm> (Page consultée le 2 novembre 2005)

DOBRAN, S.V. 2004. *Influence de la matière organique sur la spéciation de l'arsenic dans des sols synthétiques contaminés par l'arséniate de cuivre chromaté (CCA)*. 206 p. Mémoire de maîtrise ès sciences appliquées en génie chimique, Ecole Polytechnique de Montréal.

- DOBRAN, S., ZAGURY, G.J. 2006. « Arsenic speciation and mobilization in CCA-contaminated soils: influence of organic matter content ». *The Science of the Total Environment*. Sous presse.
- DUBÉ, E.M., PETITO BOYCE, C., BECK, B.D., LEWANDOWSKI, T., SCHETTLER, S. 2004. « Assessment of potential human health risks from arsenic in CCA-treated wood ». *Human and Ecological Risk Assessment*. 10:6. 1019-1067.
- ELICKSON, K.M., MEEKER, R.J., GALLO, M.A., BUCKLEY, B.T., LIOY, P.J. 2001. « Oral bioavailability of lead and arsenic from a NIST standard reference soil material ». *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 40:128-135.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 2002. Guide de déclaration des installations de préservation du bois à l'inventaire national des rejets polluants (Comité directeur des fabricants de produits de préservation et des usines de traitement du bois – Processus des options stratégiques du secteur de la préservation du bois). In *Site d'Environnement Canada*. [En ligne]. http://www.ec.gc.ca/pdb/npri/2002guidance/Wood2002/section3C_f.cfm et http://www.ec.gc.ca/pdb/npri/2002guidance/Wood2002/section4C_f.cfm (Pages consultées le 15 août 2005)
- FENDORF, S., LA FORCE, M.J., LI, G. 2004. « Temporal changes in soil partitioning and bioaccessibility of arsenic, chromium, and lead ». *Journal of Environmental Quality*. 33:6. 2049-2055.
- GLEYZES, C., TELLIER, S., SABRIER, R., ASTRUC, M. 2001. « Arsenic characterisation in industrial soils by chemical extractions ». *Environmental Technology*. 22:27-38.

- GUO, A., COOPER, P.A., UNG, T. 2005. « Fixation and leaching characteristics of acid copper chromate (ACC) compared to other chromium-based wood preservatives ». *Forest Products Journal*. 55:7/8. 72-75.
- HAMEL, S.C., BUCKLEY, B., LIOY, P.J. 1998. « Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid ». *Environmental Science and Technology*. 32:3. 358-362.
- HEMOND, H.F., SOLO-GABRIELE, H.M. 2004. « Children's exposure to arsenic from CCA-treated wooden decks and playground structures ». *Risk Analysis*. 24:1. 51-64.
- HINGSTON, J.A., COLLINS, C.D., MURPHY, R.J., LESTER, J.N. 2001. « Leaching of chromated copper arsenate wood preservatives: a review ». *Environmental Pollution*. 111:1. 53-66.
- HUDSON-EDWARDS, K.A., HOUGHTON, S.L., OSBORN, A. 2004. « Extraction and analysis of arsenic in soils and sediments ». *Trends in Analytical Chemistry*. 23:10-11. 745-752.
- HUGHES, M.F. 2002. « Arsenic toxicity and potential mechanisms of action ». *Toxicology Letters*. 133:1-16.
- IMPELLITTERI, C.A., SAXE, J.K., COCHRAN, M., JANSSEN, G.M.C.M., ALLEN, H.E. 2003. « Predicting the bioavailability of copper and zinc in soils: modeling the partitioning of potentially bioavailable copper and zinc from soil solid to soil solution ». *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22:6. 1380-1386.

- JOSEPH, G. 1999. *Copper: its trade, manufacture, use, and environmental status*. Ed. Konrad J.A. Kundig. Ohio : ASM International. 451 p.
- KABATA-PENDIAS, A. 2001. *Trace elements in soils and plants*. 3rd edition. Boca Raton, FL : CRC Press. 413 p.
- KATZ, S.A., SALEM, H. 2005. « Chemistry and toxicology of building timbers pressure-treated with chromated copper arsenate: a review ». *Journal of Applied Toxicology*. 25:1-7.
- KELLEY, M.E., BRAUNING, S.E., SCHOOF, R.A., RUBY, M.V. 2002. *Assessing oral bioavailability of metals in soil*. Columbus, Ohio : Battelle Press. 124 p.
- KHAN, B.I., SOLO-GABRIELE, H.M., DUBEY, B.K., TOWNSEND, T.G., CAI, Y. 2004. « Arsenic speciation of solvent-extracted leachate from new and weathered CCA-treated wood ». *Environmental Science and Technology*. 38:17. 4527-4534.
- KISSEL, J.C., SHIRAI, J.H., RICHTER, K.Y., FENSKE, R.A. 1998. « Empirical investigation of hand-to-mouth transfer of soil ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 60:3. 379-386.
- KONUK, T. 2003. *Développement d'une méthode d'évaluation gastro-intestinale de la bioaccessibilité de l'arsenic d'un sol contaminé au CCA*. 24 p. et 5 annexes. Projet de fin d'études, Ecole Polytechnique de Montréal.
- LE, X.C. 2002. « Arsenic speciation in the environment and humans ». *Environmental chemistry of arsenic*. Ed. William T. Frankenberger, Jr. New-York : Marcel Dekker. P. 95-116.

- LEFEUVRE, A. 2003. *Bioaccessibilité gastro-intestinale de l'arsenic d'un sol contaminé à l'arséniate de cuivre chromaté (CCA)*. 59 p. et 3 annexes. Travail de fin d'études, Ecole Polytechnique de Montréal et Ecole Nationale des Travaux Publics de l'Etat (France).
- LEHR, C.R., POLISHCHUK, E., RADOJA, U., CULLEN, W.R. 2003. « Demethylation of methylarsenic species by *Mycobacterium neoaurum* ». *Applied Organometallic Chemistry*. 17:831-834.
- MCLEAN, J.E., BLEDSOE, B.E. 1992. « Behavior of metals in soils ». Washington, DC : Technology Innovation Office, Office of Solid Waste and Emergency Response, USEPA. 25 p. EPA/540/S-92/018.
- MERCIER, G., DUCHESNE, J., CARLES-GIBERGUES, A. 2002a. « A new in vitro test to simulate gastric absorption of copper, lead, tin and zinc from polluted soils ». *Environmental Technology*. 23:121-133.
- MERCIER, G., DUCHESNE, J., CARLES-GIBERGUES, A. 2002b. « A simple and fast screening test to detect soils polluted by lead ». *Environmental Pollution*. 118:285-296.
- NRC. National Research Council [Etats-Unis]. Committee on biologic effects of atmospheric pollutants. 1974. *Chromium*. Coll. Medical and biologic effects of environmental pollutants. Washington, DC : National Academy of Sciences. 155 p.
- NICO, P.S., FENDORF, S.E., LOWNEY, Y.W., HOLM, S.E., RUBY, M.V. 2004. « Chemical structure of arsenic and chromium in CCA-treated wood: implications of environmental weathering ». *Environmental Science and Technology*. 38:19. 5253-5260.

- NRIAGU, J.O. 1979. *Copper in the environment. Part 1: Ecological cycling*. New-York : Wiley. 522 p.
- OOMEN, A.G., HACK, A., MINEKUS, M., ZEIJDER, E., CORNELIS, C., SCHOETERS, G. *et al.* 2002. « Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants ». *Environmental Science and Technology*. 36:15. 3326-3334.
- PANTSAR-KALLIO, M., MANNINEN, P.K.G. 1997. « Speciation of mobile arsenic in soil samples as a function of pH ». *The Science of the Total Environment*. 204:193-200.
- PASSAVY, G. 2005. *Bioaccessibilité gastro-intestinale de l'arsenic en cas d'ingestion de sols contaminés : influence de la spéciation*. 54 p. Rapport de stage de fin d'études, Ecole Polytechnique de Montréal et Ecole Centrale de Lyon (France).
- PONGRATZ, R. 1998. « Arsenic speciation in environmental samples of contaminated soil ». *The Science of the Total Environment*. 224:133-141.
- REDMAN, A.D., MACALADY, D.L., AHMANN, D. 2002. « Natural organic matter affects arsenic speciation and sorption onto hematite ». *Environmental Science and Technology*. 36:2889-2896.
- RODRIGUEZ, R.R., BASTA, N.T., CASTEEL, S.W., PACE, L.W. 1999. « An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media ». *Environmental Science and Technology*. 33:4. 642-649.

- RODRIGUEZ, R.R., BASTA, N.T., CASTEEL, S.W., ARMSTRONG, F.P., WARD, D.C. 2003. « Chemical extraction methods to assess bioavailable arsenic in soil and solid media ». *Journal of Environmental Quality*. 32:3. 876-884.
- RUBY, M.V., DAVIS, A., SCHOOOF, R., EBERLE, S., SELLSTONE, C.M. 1996. « Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test ». *Environmental Science and Technology*. 30:422-430.
- RUBY, M.V., SCHOOOF, R., BRATTIN, W., GOLDADE, M., POST, G., HARNOIS, M. *et al.* 1999. « Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment ». *Environmental Science and Technology*. 33:21. 3697-3705.
- SANTÉ CANADA. 2002. Note sur la réévaluation : Arséniate de cuivre et de chrome (REV2002-03). In *Site de Santé Canada*. [En ligne]. <http://www.pmr-arla.gc.ca/francais/pdf/rev/rev2002-03-f.pdf> (Page consultée le 25 août 2005)
- SARKAR, D., DATTA, R. 2004. « Arsenic fate and bioavailability in two soils contaminated with sodium arsenate pesticide: an incubation study ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 72:240-247.
- SAUVÉ, S., MCBRIDE, M.B., NORVELL, W.A., HENDERSHOT, W.H. 1997. « Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter ». *Water, Air, and Soil Pollution*. 100:133-149.
- SCHRODER, J.L., BASTA, N.T., SI, J., CASTEEL, S.W., EVANS, T., PAYTON, M. 2003. « In vitro gastrointestinal method to estimate relative bioavailable cadmium in contaminated soil ». *Environmental Science and Technology*. 37:7. 1365-1370.

- SCHRODER, J.L., BASTA, N.T., CASTEEL, S.W., EVANS, T.J., PAYTON, M.E., SI, J. 2004. « Validation of the in vitro gastrointestinal (IVG) method to estimate relative bioavailable lead in contaminated soils ». *Journal of Environmental Quality*. 33:2. 513-521.
- SKOWRONSKI, G.A., SEIDE, M., ABDEL-RAHMAN, M.S. 2001. « Oral bioaccessibility of trivalent and hexavalent chromium in soil by simulated gastric fluid ». *Journal of Toxicology and Environmental Health*. Part A, 63:5. 351-362.
- SMITH, E., NAIDU, R., ALSTON, A.M. 1998. « Arsenic in the soil environment: a review ». *Advances in Agronomy*. 64:149-195.
- STEWART, M.A., JARDINE, P.M., BARNETT, M.O., MEHLHORN, T.L., HYDER, L.K., MCKAY, L.D. 2003a. « Influence of soil geochemical and physical properties on the sorption and bioaccessibility of chromium (III) ». *Journal of Environmental Quality*. 32:1. 129-137.
- STEWART, M.A., JARDINE, P.M., BRANDT, C.C., BARNETT, M.O., FENDORF, S.E., MCKAY, L.D. *et al.* 2003b. « Effects of contaminant concentration, aging, and soil properties on the bioaccessibility of Cr(III) and Cr(VI) in soil ». *Soil and Sediment Contamination*. 12:1. 1-21.
- STILWELL, D.E., GORNY, K.D. 1997. « Contamination of soil with copper, chromium, and arsenic under decks built from pressure treated wood ». *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 58:22-29.
- STOOK, K., TOLAYMAT, T., WARD, M., DUBEY, B., TOWNSEND, T., SOLO-GABRIELE, H. *et al.* 2005. « Relative leaching and aquatic toxicity of pressure-treated wood products using batch leaching tests ». *Environmental Science and*

Technology. 39:1. 155-163.

SUZUKI, K.T., KATAGIRI, A., SAKUMA, Y., OGRA, Y., OHMICH, M. 2004. « Distributions and chemical forms of arsenic after intravenous administration of dimethylarsinic and monomethylarsonic acids to rats ». *Toxicology and Applied Pharmacology*. 198:336-344.

TESSIER, A., CAMPBELL, P.G.C., BISSON, M. 1979. « Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals ». *Analytical Chemistry*. 51:7. 844-851.

TURPEINEN, R., VIRTÄ, M., HÄGGBLÖM, M.M. 2003. « Analysis of arsenic bioavailability in contaminated soils ». *Environmental Toxicology and Chemistry*. 22:1. 1-6.

URSITTI, F., VANDERLINDEN, L., WATSON, R., CAMPBELL, M. 2004. « Assessing and managing exposure from arsenic in CCA-treated wood play structures ». *Canadian Journal of Public Health*. 95:6. 429-433.

USEPA. 1997. *Exposure factors handbook. Volume I: General factors ; Volume III: Activity factors*. EPA/600/P-95/002Fa ; EPA/600/P-95/002Fc. Washington, DC : Office of Research and Development, U.S. Government Printing Office.

WHO. 2001. *Environmental health criteria 224, Arsenic and arsenic compounds*. 2nd edition. [En ligne]. Geneva : World Health Organization. 187 p. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc224.htm> (Page consultée le 3 octobre 2005)

- WILLIAMS, T.M., RAWLINS, B.G., SMITH, B., BREWARD, N. 1998. « In-vitro determination of arsenic bioavailability in contaminated soil and mineral beneficiation waste from Ron Phibun, southern Thailand: a basis for improved human risk assessment ». *Environmental Geochemistry and Health*. 20:169-177.
- WITMER, C.M., HARRIS, R., SHUPACK, S.I. 1991. « Oral bioavailability of chromium from a specific site ». *Environmental Health Perspectives*. 92:105-110.
- YANG, J.-K., BARNETT, M.O., JARDINE, P.M., BROOKS, S.C. 2003. « Factors controlling the bioaccessibility of arsenic (V) and lead (II) in soil ». *Soil and Sediment Contamination*. 12:2. 165-179.
- YANG, J.-K., BARNETT, M.O., ZHUANG, J., FENDORF, S.E., JARDINE, P.M. 2005. « Adsorption, oxidation, and bioaccessibility of As(III) in soils ». *Environmental Science and Technology*. 39:18. 7102-7110.
- ZAGURY, G. J. 1997. *Etude d'un traitement par biolixiviation au moyen de la microflore indigène ferroxydante des sols contaminés aux métaux lourds (Zn, Cu, Mn)*. 176 p. Thèse de Doctorat en génie de l'environnement, Université de Sherbrooke.
- ZAGURY, G.J., SAMSON, R., DESCHENES, L. 2003a. « Occurrence of metals in soil and ground water near chromated copper arsenate-treated utility poles ». *Journal of Environmental Quality*. 32:2. 507-514.
- ZAGURY, G. J., MARTINEAU, G., SAMSON, R., DESCHENES, L. 2003b. *Caractérisation physico-chimique et écotoxicité des sols et de l'eau à proximité de poteaux de bois traités au CCA-PA*. Rapport d'étape 1 préparé pour Bell Canada et Hydro-Québec par la chaire industrielle CRSNG en assainissement et gestion des

sites. Montréal : Ecole Polytechnique de Montréal. 38 p. et 4 annexes.

ZAGURY, G. J., JEAN, L., MARTINEAU, G., SAMSON, R., DESCHENES, L. 2004. *Caractérisation physico-chimique et écotoxicité des sols et de l'eau à proximité de poteaux de bois traités au CCA-PA*. Rapport d'étape 2 préparé pour Bell Canada et Hydro-Québec par la chaire industrielle CRSNG en assainissement et gestion des sites. Montréal : Ecole Polytechnique de Montréal. 55 p. et 4 annexes.

ZAGURY, G.J., DOBRAN, S., ESTRELA, S., DESCHENES, L. 2006. « Arsenic speciation in soil and groundwater near CCA-treated wood poles in service ». *Environmental Science and Technology*. En préparation.

ZAGURY, G.J., POUSCHAT, P. 2005. « Comments on « Arsenic on the hands of children after playing in playgrounds » ». *Environmental Health Perspectives*. 113:8. A508.

ANNEXES

ANNEXE 1 : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

DETERMINATION DE LA BIOACCESSIBILITE IN VITRO DE L'ARSENIC DANS DES SOLS CONTAMINES PAR L'ACC

 ÉCOLE POLYTECHNIQUE MONTREAL Département CGM		PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole # : PE-60C		Nombre de pages : 13	
Version : Version 3/3		Date : 16 novembre 2005	
Auteur(s) : <u>Priscilla Pouschat,</u> <u>Tümay Konuk</u>			
Approuvé par : <u>Manon Leduc</u> <u>Gérald Zagury</u> _____		Signatures : Date : ☐ _____ ☐ _____ ☐ _____	

Titre : Évaluation in vitro de la bioaccessibilité gastro-intestinale de l'arsenic dans un sol contaminé par le CCA-PA
Mots clés : Bioaccessibilité, biodisponibilité, arsenic, méthode gastro-intestinale in vitro, CCA-PA.

1 OBJECTIF

Ce protocole vise à déterminer la bioaccessibilité gastro-intestinale in vitro de l'arsenic dans des sols de surface, à la base de poteaux traités au CCA-PA. Il a été développé dans le cadre d'un suivi environnemental, suite à l'installation de poteaux traités au CCA-PA comportant un nouvel additif polymère utilisé pour amollir le bois et faciliter le travail des monteurs de ligne.

Les résultats de cette méthode gastro-intestinale in vitro fourniront une indication de la bioaccessibilité de l'arsenic dans l'organisme d'un enfant suite à l'ingestion de sol contaminé. Ce protocole s'applique au traitement d'un échantillon en triplicata et d'un témoin abiotique.

2 MATERIEL

Réactifs :

- 11 g de NaHCO_3 (Anachemia, n° 80500-380, grade A.C.S.) ;
- 8.77 g de NaCl à 0.15 M (Anachemia, n° 81708-380, grade A.C.S.) ;
- 7.50 g d'extrait de pepsine (1 % (p/v)) d'origine porcine (Sigma-Aldrich, n° P7000), conservée au dessiccateur ;
- 4 fois 0.49 g d'extrait de bile d'origine porcine (Sigma-Aldrich, n° B8631) ;
- 4 fois 0.049 g d'extrait de pancréatine d'origine porcine (Sigma-Aldrich, n° P1500), conservée au congélateur ;
- 6 mL de décanol (Sigma-Aldrich, n° 150584) ;
- 4 mL de HCl concentré (Anachemia, grade environnemental) ;
- 1 bonbonne de gaz argon UHP, Air Liquide ;
- Eau déionisée (résistivité $> 18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$).

Matériel pour le montage de la méthode gastro-intestinale in vitro :

- Bain thermostaté avec sa grille ;

- 1 thermomètre ;
- Agitateur HS-4 Stirrer ;
- 4 tiges agitatrices à 2 pales 2,5 cm ;
- 6 contrôleurs de pH Cole Parmer 5652-50 (manuel d'instruction en annexe) ;
- 4 sondes à pH Accumet (Fisher, n° 13-620-285) ;
- Solutions tampons standards (pH 2, pH 4, pH 7) ;
- 1 régulateur de gaz ;
- 1 débitmètre à 4 sorties (4 Ways Gang Valve) ;
- Tuyau en PVC ¼" OD ;
- 3 raccords en T ;
- 4 diffuseurs Slip-on Inlet Filter 10 µm (Supelco, cat. 59277) ;
- 2 porte thermomètres ;
- 4 pinces.

Matériel pour la préparation du sol :

- Balance analytique (0.01 g) ;
- 1 grande coupelle en aluminium ;
- 1 étuve à 45°C ;
- 1 mortier et son pilon ;
- 1 tamis à 300 µm avec receveur en inox ;
- 1 pot en plastique (type pot pipi) ;
- Matériel du PSO A5 pour la détermination du poids sec.

Matériel pour la préparation des solutions :

- Balances analytiques (0.0001 g et 0.01 g) ;
- 1 paire de lunettes de sécurité ;
- Plaque agitatrice ;
- 1 barreau magnétique ;

- 4 coupelles moyennes en plastique ;
- 3 spatules en téflon ;
- 1 paire de gants de labo ;
- 1 ballon jaugé de 500 mL ;
- 1 ballon jaugé de 250 mL ;
- 1 bouteille graduée de 1000 mL autoclavable avec une dispensette de 100 mL ;
- 1 bécher de 250 mL ;
- 1 cylindre gradué de 100 mL ;
- 1 seringue de 60 mL munie d'un embout filtre Millex Durapore de 0.45 μm ;
- 2 tubes à centrifuger en PPCO de 50 mL ou 1 bouteille en verre de 100 mL à ouverture large ;
- Pissette.

Matériel utilisé lors de l'essai de bioaccessibilité de l'arsenic :

- Balance analytique (0.0001) ;
- Boîte de gants de labo en nitrile ;
- 1 spatule en téflon ;
- 4 béchers de 250 mL ;
- 4 attaches en plastique ;
- 2 tubes à centrifuger en PPCO de 50 mL ;
- 1 pipette graduée jetable de 2 mL munie d'une propipette ;
- 4 seringues en plastique de 1.0 mL (B-D Luer-Lock) ;
- 4 seringues en plastique de 10 mL (B-D Luer-Lock) ;
- 8 tubes à centrifugation de 15 mL ;
- 8 petites coupelles en plastique ;
- Pipettes pasteur selon les besoins ;
- 8 seringues de 10 mL (B-D Luer-Lock) + 8 embouts filtres Millex Durapore de 0.45 μm .

3 METHODOLOGIE

3.1 Lavage du matériel

Avant de débiter l'expérience, s'assurer de bien laver toute la verrerie de même que le matériel en téflon et en PPCO deux fois à l'acide nitrique (HNO_3) 10% (v/v), puis de les rincer trois fois à l'eau déionisée. Laver également tout le matériel laissé en contact avec les divers éléments utilisés lors de l'essai.

Pour ce faire, laver tout d'abord la vaisselle à l'aide d'un détergent doux et d'eau distillée puis rincer à l'eau déionisée. Une fois la vaisselle ainsi lavée, déposer (à l'aide de gants en nitrile) le matériel propre dans le bac de lavage No. 1 à l'acide nitrique 10% (v/v) situé à côté de la hotte #4 pour la nuit. Le lendemain, sortir la vaisselle du bac à l'aide des gants et d'un bac à vaisselle et rincer à l'eau déionisée au-dessus de l'évier. Une fois la vaisselle rincée à l'eau déionisée, remettre dans le second bac de lavage à l'acide nitrique 10% (v/v) situé à côté de la hotte #4 pour une heure. Au bout d'une heure, sortir le matériel et le rincer à l'eau déionisée trois fois.

3.2 Procédure de montage de la méthode gastro-intestinale in vitro

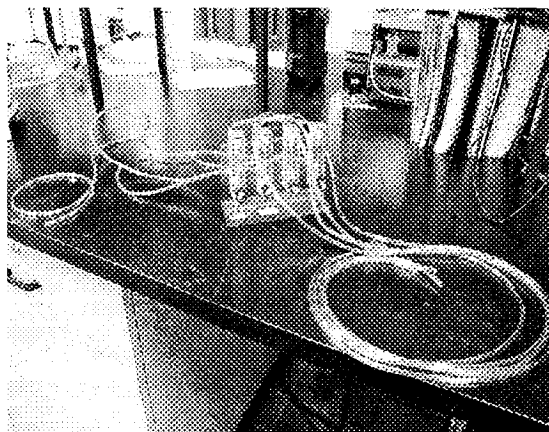


Il est important, avant de débiter le montage, de bien identifier les différentes composantes du montage présentées dans la section 2 du présent protocole.

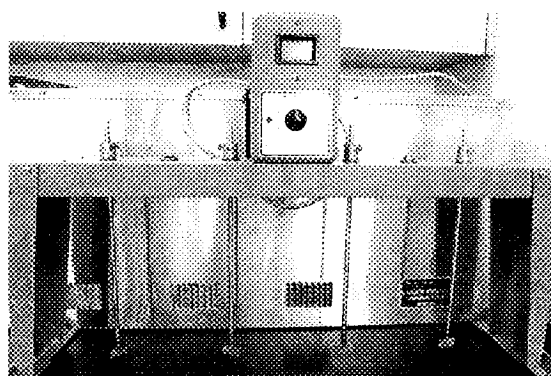
De plus, le bain devra être mis en route environ 24 h à l'avance, afin qu'il soit en température (37°C) lors de l'expérience de bioaccessibilité.

1.0 Remplir d'eau le bain thermostaté de manière à ce que le niveau de l'eau atteigne environ la graduation de 200 mL des béchers de 250 mL.

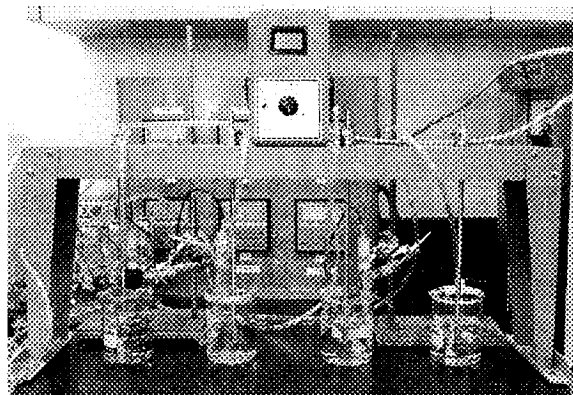
2.0 Couper 7 morceaux de tuyau en PVC et utiliser les 3 raccords de façon à relier la sortie de la bonbonne d'argon aux 4 entrées du régulateur de gaz. Puis couper 4 morceaux de tuyau afin de relier chaque sortie du régulateur à chacun des béchers de 250 mL. Prévoir une longueur suffisante pour que chaque tuyau touche le fond des béchers, et fixer à l'extrémité de chaque tuyau un diffuseur.



3.0 Fixer les tiges agitatrices à pales sur l'agitateur de manière à ce que les quatre tiges aient la même hauteur à partir de la base des béchers (environ 1.5 cm depuis la grille).



4.0 Munir chaque porte-thermomètre de 2 pinces (qui permettront l'introduction des sondes à pH dans les béchers). Puis déposer dans le bain l'agitateur et les deux porte-thermomètres à l'arrière de celui-ci.



5.0 Brancher les 4 sondes à pH aux modules pH/ORP à l'arrière du contrôleur en série. Calibrer les appareils : les modules du contrôleur à pH doivent être calibrés à 37°C en deux points avec les solutions tampons pH 7 et pH 2 (cf. manuel d'instruction en annexe : 8.2. *Standardization with Manual Temperature Control*).



3.3 Préparation du sol

- 1.0 Peser (balance 0.01 g) environ 60 g de sol dans une grande coupelle en aluminium et laisser sécher dans une étuve pendant 24 heures à 45°C.
- 2.0 Détacher les particules du sol séché à l'aide d'un mortier et d'un pilon en faisant attention le plus possible de ne pas écraser les particules.
- 3.0 Tamiser ensuite le sol avec un tamis de 300 μm afin de récupérer toutes les particules inférieures à 300 μm .
- 4.0 Transférer le sol tamisé dans un « pot pipi ».

5.0 Peser 3 fois environ 1.1 g de sol ($< 300 \mu\text{m}$) pour détermination de l'arsenic total, puis envoyer chez MAXXAM ou conserver à 4°C en attendant l'envoi.

6.0 Effectuer un poids sec en duplicata sur 5 g de sol selon le protocole PSO A5.

3.4 Préparation des solutions

Avant de débiter la préparation des solutions, laver soigneusement tout le matériel tel que décrit dans la section 3.1.

Solution Gastrique : 750 mL de solution avec 0.15 M de NaCl et 1 % (p/v) de pepsine d'origine porcine :

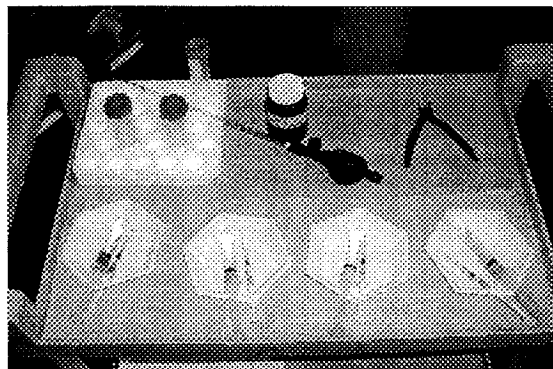
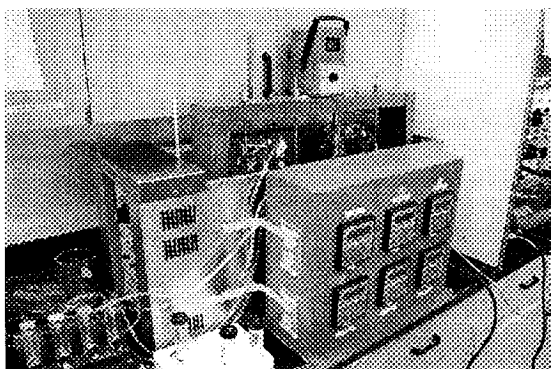
Cette solution doit être préparée le jour même de l'expérience. Elle doit également être préparée dans deux contenants de 500 mL et de 250 mL pour un volume total de 750 mL.

- 1.0 Peser à la balance (0.0001 g) 4.38 g (pour la solution de 500 mL) et 2.19 g (pour la solution de 250 mL) de NaCl dans deux coupelles en plastique et les transférer séparément et quantitativement dans les ballons.
- 2.0 Peser à la balance (0.0001 g) 5 g (pour la solution de 500 mL) et 2.5 g (pour la solution de 250 mL) de pepsine d'origine porcine dans les deux coupelles en plastique et les transférer séparément et quantitativement dans les ballons.
- 3.0 Ajouter un peu d'eau déionisée au fond de chacun des deux ballons (jusqu'à 50 mL pour la solution de 250 mL et 100 mL pour la solution de 500 mL) et remuer jusqu'à dissolution complète.
- 4.0 Compléter jusqu'à la jauge avec de l'eau déionisée et agiter pour homogénéiser.
- 5.0 Transférer le tout dans une bouteille de 1000 mL autoclavable et ajuster la dispensette.

100 mL de solution saturée de NaHCO_3 :

- 1.0 Peser à la balance (0.01 g) 11 g de NaHCO_3 dans un bécher de 250 mL.
- 2.0 Mettre dans le bécher un barreau magnétique et ajouter 100 mL d'eau déionisée à l'aide d'un cylindre gradué de 100 mL.
- 3.0 Déposer le bécher sur une plaque agitatrice et laisser dissoudre.
- 4.0 Filtrer à l'aide d'une seringue de 60 mL et d'un filtre Millex Durapore 0.45 μm .
- 5.0 Transférer le tout dans deux tubes à centrifuger de 50 mL ou dans une bouteille de 100 mL et boucher.

3.5 Réalisation de l'essai gastro-intestinal in vitro



3.5.1 Préparation du matériel

- 1.0 Laver tout le matériel et la verrerie qui serviront au cours de l'essai tel que décrit sous la section 3.1.
- 2.0 Chauffer préalablement le bain thermostaté à 37°C (pendant 24 h environ).
- 3.0 Vérifier la calibration des quatre contrôleurs et des sondes à pH.
- 4.0 Numéroté les 8 tubes à centrifugation de 15 ml (triplicata + témoin pour chaque phase).
- 5.0 Verser du HCl concentré dans un tube à centrifuger de 50 mL et du décanol dans un autre tube à centrifuger de 50 mL.

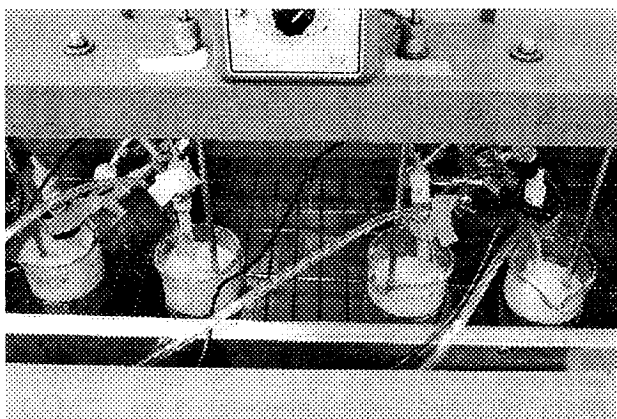
6.0 Remplir les seringues de 1.0 mL avec la solution d'HCl concentré et les seringues de 10 mL avec la solution saturée de NaHCO_3 et bien les identifier (codes de couleurs) afin d'ajuster le pH tout au long de l'expérience.

7.0 Peser à la balance (0.0001 g) 4 fois 0.49 g* (triplicata + témoin) d'extrait de bile d'origine porcine (0.35 %) dans des coupelles en plastique et réserver.

8.0 Peser à la balance (0.0001 g) 4 fois 0.049 g (triplicata + témoin) d'extrait de pancréatine d'origine porcine (0.035 %) dans des coupelles en plastique et réserver.

*0.49 g permettent d'obtenir une concentration de 0.35% dans la solution intestinale qui a un volume de 140 mL.

3.5.2 La phase gastrique



9.0 Peser à la balance (0.0001 g) 3 fois 1 g (triplicata) d'échantillon du sol qui a été séché et tamisé dans des béchers de 250 mL (noter le poids exact).

10.0 Verser dans chacun des quatre béchers 150 mL de solution gastrique à l'aide d'une dispensette de 100 mL (2 x 75 mL).

11.0 Soulever les quatre tiges agitatrices de l'agitateur et déposer les quatre béchers dans le bain thermostaté à 37°C.

12.0 Fixer les quatre sondes à pH dans chaque bécher à l'aide des pinces sur les porte-thermomètres.

- 13.0 Introduire un tuyau d'alimentation à l'argon (muni de l'embout diffuseur) dans chacun des béchers, le fixer sur les sondes à pH à l'aide des attaches en plastique et activer l'alimentation (réglage du débit d'argon : 0.1 LPM AIR).
- 14.0 Actionner l'agitateur et régler à une vitesse de 100 rpm.
- 15.0 Ajuster le pH des solutions à 1.8 ± 0.05 à l'aide des seringues (au goutte à goutte), soit avec la solution de HCl concentré pour acidifier, soit avec la solution saturée de NaHCO_3 pour augmenter l'alcalinité (en général, ajouter 3 gouttes d'HCl au début).
- 16.0 Ajouter 1.5 mL de décanol (anti-mousseux) dans chaque bécher à l'aide d'une pipette de 2 mL munie d'une propipette. Lors de l'expérience, le décanol flotte sur les solutions (sous la mousse) ; utiliser une pipette pasteur (une différente par bécher) pour le recycler afin de contenir la formation de mousse.
- 17.0 Laisser agiter pendant une heure en prenant soin d'ajuster le pH à 1.8 durant toute la durée de la phase gastrique.
- 18.0 Passer à l'étape 24.0.

3.5.3 La phase intestinale

- 19.0 À la fin de l'étape 27.0, actionner l'agitateur toujours à la vitesse de 100 rpm (et remettre l'alimentation d'argon).
- 20.0 Ajuster le pH des solutions à 5.5 avec la solution saturée de NaHCO_3 à l'aide des seringues. Commencer par ajouter 3.0 mL de NaHCO_3 .
- 21.0 Ajouter ensuite dans chacun des béchers, les 0.49 g d'extrait de bile porcine et les 0.049 g d'extrait de pancréatine réservés lors des étapes 7.0 et 8.0.
- 22.0 Laisser agiter pendant une heure en prenant soin d'ajuster le pH à 5.5 durant toute la durée de la phase intestinale. Recycler le décanol pour contenir la mousse.
- 23.0 Passer à l'étape 24.0.

3.5.4 A la fin des deux phases gastrique et intestinale

- 24.0 À la fin de chacune des phases d'une heure (gastrique et intestinale), noter très précisément les volumes d'HCl et de NaHCO₃ ajoutés.
- 25.0 Arrêter l'agitateur et si nécessaire, soulever les tiges agitatrices et arrêter l'alimentation en argon le temps de prélever les échantillons.
- 26.0 Prélever 10 mL du surnageant de chacun des béchers à l'aide de seringues de 10 mL.
- 27.0 Fixer à l'embout de chaque seringue un filtre de 0.45 µm et filtrer directement dans les tubes à centrifuger numérotés de 15 mL.

3.5.5 A la fin de l'essai

- 28.0 Envoyer les 8 échantillons pour analyse de l'arsenic total chez MAXXAM ou les préserver à 4°C en attendant.

3.6 Calculs

% d'As gastrique bioaccessible = [As phase gastrique in vitro (mg) / As total (mg)]

% d'As intestinal bioaccessible = [As phase intestinale in vitro (mg) / As total (mg)]

As total : par digestion totale (As contenu dans 1 g de sol < 300 µm).

As phase gastrique in vitro : As bioaccessible dans 1 g de sol < 300 µm dans 150 mL + volumes de HCl et décanol ajoutés.

As phase intestinale in vitro : As bioaccessible dans 1 g de sol < 300 µm dans 140 mL + volumes de NaHCO₃, HCl et décanol ajoutés.

4 REFERENCE(S)

Robin R. Rodriguez et Nicholas T. Basta; Stan W. Casteel et Lanny W. Pace, (1999), *An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media*, Environ. Sci. Technol., 33, 642-649.

5 ANNEXE(S)

Manuel d'instructions du contrôleur à pH.

**EXTRACTION DE L'ARSENIC CONTENU DANS UN SOL CONTAMINÉ PAR LE CCA-PA
LIÉ AUX OXYDES DE FER ET DE MANGANESE PAR HYDROCHLORURE
HYDROXYLAMINE**

	PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL														
Protocole # : PE-60E	Nombre de pages : 6														
Version : Version 2/2	Date : 4 mai 2005														
Auteur(s) : Priscilla Pouschat															
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> Approuvé par : <u>Manon Leduc</u> <u>Gérald Zagury</u> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Signatures :</td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 50%;">Date :</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> </table> </td> </tr> </table>		Approuvé par : <u>Manon Leduc</u> <u>Gérald Zagury</u> 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Signatures :</td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 50%;">Date :</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Signatures :		Date :	☐			☐			☐		
Approuvé par : <u>Manon Leduc</u> <u>Gérald Zagury</u> 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Signatures :</td> <td style="width: 20%;"></td> <td style="width: 50%;">Date :</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Signatures :		Date :	☐			☐			☐				
Signatures :		Date :													
☐															
☐															
☐															

Titre : Extraction de l'arsenic contenu dans un sol contaminé par le CCA-PA et lié aux oxydes de fer et de manganèse par l'hydrochlorure hydroxylamine

Mots clés : sol, arsenic, extraction, bioaccessibilité

1 OBJECTIF & JUSTIFICATION

Ce protocole vise à déterminer la quantité d'arsenic contenu dans une matrice de sol lié aux oxydes de fer et manganèse. En effet, l'hydrochlorure hydroxylamine permet d'extraire non seulement l'arsenic complexé superficiellement mais aussi celui contenu dans la matrice minérale et adsorbé aux surfaces minérales (oxydes de Fe et Mn). Cette extraction permet ainsi une estimation de l'arsenic potentiellement biodisponible pour le système digestif humain.

2 MATERIEL

Réactifs :

- 19,14 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (Anachemia, n° 47334) ;
- 22,8 mL de HCl 12,1 M (Anachemia, n° 46396, grade environnemental) ;
- 1,87 mL de H_3PO_4 (Anachemia, n° 7438) ;
- Eau déionisée (résistivité > 18,2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$).

Matériel pour la préparation de la solution extractante :

- Balance analytique (0,0001 g) ;
- 2 coupelles en plastique ;
- 1 spatule en téflon ;
- 1 ballon jaugé de 1 000 mL ;
- 1 ballon jaugé de 100 mL ;
- 1 bécher de 100 mL (pour la solution d' HCl) ;
- 1 bécher de 50 mL (pour la solution d' H_3PO_4) ;
- 1 pipette graduée de 25 mL ;
- 2 pipettes graduées de 5 mL ;
- 1 pipette graduée de 1 mL ;

- 1 bouteille autoclavable de 2 L avec bouchon.

Matériel pour l'extraction (pour un sol en triplicata et un blanc) :

- Balance analytique (0,0001 g) ;
- 3 g de sol ;
- 1 spatule en téflon ;
- 1 bécher de 400 mL ;
- Incubateur avec mouvement orbital à 60°C ;
- Centrifugeuse de type BECKMAN modèle J2-21 et rotor JA-10 ;
- 4 bouteilles à centrifugeuse en PPCO de 500 mL et bouchons ;
- 4 seringues de 60 mL munies d'un embout filtre Millex Durapore de 0,45 µm ;
- 4 tubes à analyses de 50 mL.

3 UTILISATION ET CONTROLE DES MATIERES DANGEREUSES

Cf. fiches signalétiques des acides chlorhydrique et phosphorique, et de l'hydrochlorure hydroxylamine au laboratoire.

4 METHODOLOGIE

4.1 Lavage du matériel

Avant de débiter l'expérience, s'assurer de bien laver toute la verrerie de même que le matériel en Téflon et en PPCO deux fois à l'acide nitrique (HNO₃) 10% (v/v) puis de la rincer trois fois à l'eau déionisée. Laver également tout le matériel laissé en contact avec les divers éléments utilisés lors de l'essai.

Pour ce faire, laver tout d'abord la vaisselle à l'aide d'un détergent doux et d'eau distillée puis rincer à l'eau déionisée. Une fois la vaisselle ainsi lavée, déposer (à l'aide de gants en nitrile) le matériel propre dans le bac de lavage à l'acide nitrique 10% (v/v) situé à côté de la hotte #4 pour la nuit. Le lendemain, sortir la vaisselle du bac à l'aide des gants et d'un

bac à vaisselle et rincer à l'eau déionisée au-dessus de l'évier. Une fois la vaisselle rincée à l'eau déionisée, remettre dans le bac de lavage à l'acide nitrique 10% (v/v) situé à côté de la hotte #4 pour une heure. Au bout d'une heure, sortir le matériel et le rincer à l'eau déionisée trois fois.

4.2 Préparation d'un litre et cent millilitres (1,1 L) de solution extractante

La solution extractante est une solution d'hydrochlorure hydroxylamine composée comme suit :

- 0,25 M $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$;
 - 0,25 M HCl ;
 - 0,025 M H_3PO_4 .
1. Peser à la balance 17,4 g (pour la solution de 1 L) et 1,74 g (pour la solution de 100 mL) de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, dans deux coupelles en plastique, et les transférer séparément et quantitativement dans les ballons jaugés de capacités 1 L et 100 mL.
 2. Ajouter environ 500 mL pour la solution de 1 L et 50 mL pour la solution de 100 mL d'eau déionisée dans les ballons.
 3. Mesurer 20,7 mL (pour la solution de 1 L) et 2,1 mL (pour la solution de 100 mL) de HCl 12,1 M, puis 1,7 mL (pour la solution de 1 L) et 0,17 mL (pour la solution de 100 mL) de H_3PO_4 à l'aide des pipettes, et ajouter ces réactifs dans les ballons jaugés.
 4. Compléter avec de l'eau déionisée jusqu'aux traits de jauge, puis agiter pour homogénéiser.
 5. Transférer le tout dans une bouteille de 2 L autoclavable.

4.3 Extraction de l'arsenic contenu dans le sol

1. Peser précisément à la balance 3 fois 1 g de sol préparé selon le protocole PE-60C dans des bouteilles centrifuges en PPCO de 500 mL et noter le poids exact.

2. Verser dans chacune des bouteilles 250 mL de la solution d'hydrochlorure hydroxylamine en pesant à la balance 252,5 g. En effet, la densité de cette solution est de 1,01 (à vérifier à chaque utilisation). Verser à l'aide d'un bécher, et ajuster à la pipette pasteur pour avoir le poids exact.
3. Placer les bouteilles horizontalement dans l'incubateur à 55°C pendant 40 minutes sans agitation, afin de permettre la montée en température de la solution à l'intérieur des bouteilles.
4. Mettre en marche l'agitation à 150 rpm après les 40 minutes, diminuer la température à 52°C, et laisser agiter pendant 30 minutes.
5. Centrifuger les bouteilles pendant 10 minutes à 6 000 rpm (soit 6370 g maximum).
6. Prélever 50 mL du surnageant à l'aide d'une seringue de 60 mL puis fixer l'embout filtre de 0,45 µm et filtrer directement dans les tubes à analyses de 50 mL.
7. Envoyer pour analyse de l'arsenic total par ICP ou conserver à 4°C en attendant.

5 REFERENCE(S)

**RODRIGUEZ, R.R., BASTA, N.T., CASTEEL, S.W., ARMSTRONG, F.P.,
WARD, D.C.,** 2003, *Chemical extraction methods to assess bioavailable arsenic in soil and solid media*, Journal of Environmental Quality, 32, 3, 876-884

6 ANNEXE(S)

A. Protocole d'extraction de l'arsenic soluble dans l'eau déionisée.

ANNEXE A

Extraction de l'arsenic dans l'eau déionisée

Matériel pour l'extraction (pour un sol en triplicata et un blanc) :

- Balance analytique (0,0001 g) ;
- 3 g de sol ;
- 1 spatule en téflon ;
- 1 pipette jaugée de 20 mL munie d'une poire ;
- 1 bécher de 150 mL (pour contenir l'eau déionisée) ;
- Agitateur Wrist Action, à vitesse maximale ;
- Centrifugeuse de type BECKMAN modèle J2-21 et rotor JA-20 ;
- 4 bouteilles à centrifugeuse en PPCO de 40 mL et bouchons ;
- 4 seringues de 10 mL munies d'un embout filtre Millex Durapore de 0,45 μm ;
- 4 tubes à analyses de 15 mL.

Extraction :

1. Laver le matériel nécessaire selon la procédure de lavage précédente (section 4.1).
2. Peser précisément à la balance 3 fois 1 g de sol préparé selon le protocole PE-60C dans des bouteilles centrifuges en PPCO de 40 mL. Noter le poids exact.
3. Ajouter 20 mL d'eau déionisée à l'aide d'une pipette jaugée dans chacun des 4 tubes.
4. Placer les tubes horizontalement dans l'agitateur et laisser agiter pendant 2 heures.
5. Centrifuger les tubes à 8 000 rpm pendant 5 minutes.
6. Prélever 10 mL du surnageant à l'aide d'une seringue de 10 mL puis fixer l'embout filtre de 0,45 μm et filtrer directement dans les tubes de 15 mL.
7. Envoyer pour analyse de l'arsenic total par ICP ou conserver à 4°C en attendant.

ANNEXE 2 : TABLEAUX DE CALCULS

DETERMINATION DE LA BIOACCESSIBILITE DE L'ARSENIC

Sol	Poids sol humide (g)	Teneur en eau (%)	Poids sol sec (g)	As total (mg/kg sol sec)	Volume ϕ Gastr. (mL)	As ϕ Gastr. (μ g/L)	As gastr. (mg/kg sol sec)	Volume ϕ Intest. (mL)	As ϕ Intest. (μ g/L)	As intest. (mg/kg sol sec)	As bioaccess. gastrique (%)	As bioacc. gastr. Moyen (%)	écart type	As bioaccess. intestinale (%)	As bioacc. intest. Moyen (%)	Ecart type
1A	1,0066 1,0023 1,0063	0,79 0,79 0,79	0,9986 0,9943 0,9983	225	151,77 151,73 151,82	330 410 400	50,15 62,56 60,83	145,17 145,61 145,62	400 460 450	58,15 67,36 65,64	22,28 27,79 27,02	25,70	2,99	25,83 29,92 29,16	28,30	2,18
1B	1,0134 1,0061 1,0205	0,71 0,71 0,71	1,0062 0,9989 1,0132	131	151,89 152,00 152,04	220 180 230	33,21 27,39 34,51	146,51 147,20 147,74	250 210 260	36,40 30,95 37,91	25,36 20,92 26,36	24,21	2,90	27,80 23,63 28,95	26,80	2,80
1C	1,0599 1,0132 1,0052	1,08 1,08 1,08	1,0485 1,0023 0,9944	58	151,84 151,84 151,92	86 67 88	12,45 10,15 13,44	146,08 146,16 146,55	100 91 110	13,93 13,27 16,21	21,49 17,51 23,20	20,73	2,92	24,04 22,90 27,97	24,97	2,66
2A	1,0118 1,0134 1,0130	7,16 7,16 7,16	0,9393 0,9408 0,9404	219	151,92 151,91 152,80	730 720 830	118,06 116,26 134,86	146,32 146,36 153,60	780 770 900	121,50 119,79 146,99	53,91 53,08 61,57	56,19	4,68	55,47 54,69 67,11	59,09	6,96
2B	1,0023 1,0011 1,0041	6,86 6,86 6,86	0,9335 0,9324 0,9352	172	151,84 151,89 151,87	470 410 440	76,45 66,79 71,45	146,22 145,79 146,07	540 480 520	84,58 75,05 81,22	44,50 38,88 41,59	41,66	2,81	49,24 43,69 47,28	46,73	2,81
2C	1,0018 1,0002 1,0014	8,23 8,23 8,23	0,9193 0,9178 0,9189	153	151,88 151,86 151,86	600 580 580	99,13 95,96 95,85	146,16 145,46 146,10	660 620 630	104,93 98,26 100,16	64,97 62,90 62,83	63,57	1,22	68,78 64,41 65,65	66,28	2,25

Détermination de la bioaccessibilité de l'arsenic (suite)

3A	1,1958	0,62	1,1884	151,78	500	63,86	146,22	570	70,13	44,28	40,50	3,38	48,63	47,39	0,79
	1,1802	0,62	1,1729	151,75	440	56,93	145,75	550	68,35	39,47			47,39		
	1,1213	0,62	1,1143	151,74	400	54,47	145,77	520	68,02	37,77			47,16		
3B	1,0116	0,28	1,0087	151,71	100	15,04	145,51	130	18,75	40,17	42,65	2,17	50,09	51,17	2,45
	1,0118	0,28	1,0089	151,73	110	16,54	145,63	140	20,21	44,18			53,97		
	1,0256	0,28	1,0227	151,77	110	16,32	145,67	130	18,52	43,60			49,46		
3C	1,0243	0,36	1,0207	151,78	710	105,58	145,40	850	121,09	45,74	46,33	0,64	52,46	53,16	1,26
	1,0131	0,36	1,0095	151,74	710	106,72	145,74	850	122,71	46,24			53,16		
	1,0385	0,36	1,0348	151,74	740	108,51	145,74	900	126,75	47,01			54,91		
4A	1,0423	1,72	1,0243	151,67	440	65,15	145,29	530	75,17	25,96	26,38	1,12	29,95	30,28	1,29
	1,0115	1,72	0,9941	151,65	420	64,07	145,27	520	75,99	25,53			30,28		
	1,0236	1,72	1,0060	151,72	460	69,38	145,73	560	81,12	27,64			32,32		
4B	1,0261	1,77	1,0079	151,71	240	36,12	145,53	290	41,87	20,87	22,95	1,87	24,19	29,35	2,63
	1,0212	1,77	1,0031	151,78	280	42,37	145,60	350	50,80	24,48			29,35		
	1,0253	1,77	1,0071	151,76	270	40,68	145,97	330	47,83	23,51			27,64		
4C	1,0165	1,84	0,9978	151,76	370	56,28	145,49	420	61,24	23,67	23,49	1,01	25,76	26,42	0,49
	1,0157	1,84	0,9970	151,69	350	53,25	145,60	430	62,80	22,40			26,42		
	1,0139	1,84	0,9952	151,86	380	57,98	146,88	410	60,51	24,39			25,46		
SRM 2710	1,0072	2,06	0,9864	151,74	950	146,14	145,34	930	137,03	27,18			25,48		
	1,0078	2,06	0,9870	151,74	960	147,59	145,57	910	134,21	27,44	27,55	0,44	24,96	25,23	0,26
	1,0074	2,06	0,9866	151,77	980	150,75	145,57	920	135,74	28,03			25,24		
SRM 2711	1,0241	1,69	1,0068	152,30	260	39,33	145,30	250	36,08	40,92			37,53		
	1,0074	1,69	0,9904	152,40	270	41,55	145,61	280	41,17	43,22	45,65	6,31	42,83	43,01	5,56
	0,8239	1,69	0,8100	152,28	270	50,76	145,70	260	46,77	52,81			48,65		
CRM 025	1,0083	3,45	0,9735	151,77	1900	296,20	144,93	1900	282,85	67,03	71,32	3,72	64,01	70,39	5,21
	1,0157	3,45	0,9807	151,86	2100	325,19	145,27	2100	311,08	73,59			70,39		
300µ	1,0185	3,45	0,9834	151,78	2100	324,13	145,02	1800	265,45	73,35			60,07		

DETERMINATION DE LA BIOACCESSIBILITE DU CHROME

Sol	Poids sol humide (g)	Teneur en eau (%)	Poids sol sec (g)	Cr total (mg/kg sol sec)	Volume Gastr. (mL)	Cr Gastr. (µg/L)	Cr gastr. (mg/kg sol sec)	Volume Intest. (mL)	Cr Intest. (µg/L)	Cr intest. (mg/kg sol sec)	Cr bioaccessible gastrique (%)	Cr bioaccessible gastr. Moyen (%)	écart type	Cr bioaccessible intestinal (%)	Cr bioaccessible intest. Moyen (%)	écart type
1A	1,0066	0,79	0,9986		151,77	130	19,76	145,17	50	7,27	14,34	16,58	1,93	5,28	7,66	2,09
	1,0023	0,79	0,9943	138	151,73	160	24,42	145,61	86	12,59	17,72			9,14		
	1,0063	0,79	0,9983		151,82	160	24,33	145,62	81	11,82	17,66			8,58		
1B	1,0134	0,71	1,0062		151,89	46	6,94	146,51	10	1,46	8,95	10,34	3,14	1,88	3,15	1,60
	1,0061	0,71	0,9989	78	152,00	71	10,80	147,20	26	3,83	13,93			4,94		
	1,0205	0,71	1,0132		152,04	42	6,30	147,74	14	2,04	8,13			2,63		
1C	1,0599	1,08	1,0485		151,84	0	0,00	146,08	10	1,39	0,00	2,83	4,91	3,26	3,37	0,10
	1,0132	1,08	1,0023	43	151,84	24	3,64	146,16	10	1,46	8,50			3,41		
	1,0052	1,08	0,9944		151,92	0	0,00	146,55	10	1,47	0,00			3,44		
2A	1,0118	7,16	0,9393		151,92	76	12,29	146,32	18	2,80	3,68	4,92	2,06	0,84	1,67	1,78
	1,0134	7,16	0,9408	334	151,91	78	12,59	146,36	10	1,56	3,77			0,47		
	1,0130	7,16	0,9404		152,80	150	24,37	153,60	76	12,41	7,30			3,72		
2B	1,0023	6,86	0,9335		151,84	55	8,95	146,22	10	1,57	2,27	2,30	0,62	0,40	0,40	0,00
	1,0011	6,86	0,9324	394	151,89	71	11,57	145,79	10	1,56	2,94			0,40		
	1,0041	6,86	0,9352		151,87	41	6,66	146,07	10	1,56	1,69			0,40		
2C	1,0018	8,23	0,9193		151,88	0	0,00	146,16	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1,0002	8,23	0,9178	283	151,86	0	0,00	145,46	0	0,00	0,00			0,00		
	1,0014	8,23	0,9189		151,86	0	0,00	146,10	0	0,00	0,00			0,00		
3A	1,1958	0,62	1,1884		151,78	105	13,41	146,22	90	11,07	19,89	24,36	3,93	16,43	11,03	4,71
	1,1802	0,62	1,1729	67	151,75	135	17,47	145,75	42	5,22	25,91			7,74		
	1,1213	0,62	1,1143		151,74	135	18,38	145,77	46	6,02	27,27			8,93		

Détermination de la bioaccessibilité du chrome (suite)

3B	1,0116	0,28	1,0087		151,71	113	16,99	145,51	54	7,79	64,35	54,55	21,24	29,50	32,89	17,58
	1,0118	0,28	1,0089	26	151,73	53	7,97	145,63	95	13,71	30,18			51,92		
	1,0256	0,28	1,0227		151,77	123	18,25	145,67	32	4,56	69,12			17,26		
3C	1,0243	0,36	1,0207		151,78	216	32,12	145,40	220	31,34	31,79	30,73	5,58	31,02	24,41	7,86
	1,0131	0,36	1,0095	101	151,74	166	24,95	145,74	110	15,88	24,70			15,72		
	1,0385	0,36	1,0348		151,74	246	36,07	145,74	190	26,76	35,71			26,49		
4A	1,0423	1,72	1,0243		151,67	373	55,23	145,29	120	17,02	52,87	31,94	18,24	16,29	10,58	4,98
	1,0115	1,72	0,9941	104	151,65	133	20,29	145,27	51	7,45	19,42			7,13		
	1,0236	1,72	1,0060		151,72	163	24,58	145,73	60	8,69	23,53			8,32		
4B	1,0261	1,77	1,0079		151,71	84	12,64	145,53	25	3,61	10,35	11,19	1,42	2,95	5,26	2,52
	1,0212	1,77	1,0031	122	151,78	84	12,71	145,60	41	5,95	10,40			4,87		
	1,0253	1,77	1,0071		151,76	104	15,67	145,97	67	9,71	12,83			7,95		
4C	1,0165	1,84	0,9978		151,76	74	11,26	145,49	37	5,40	10,04	18,22	8,19	4,81	8,27	5,27
	1,0157	1,84	0,9970	112	151,69	134	20,39	145,60	110	16,06	18,19			14,33		
	1,0139	1,84	0,9952		151,86	194	29,60	146,88	43	6,35	26,42			5,66		
SRM 2710	1,0072	2,06	0,9864		151,74	22	3,38	145,34	40	5,89	30,13	72,12	68,06	52,47	39,38	22,73
	1,0078	2,06	0,9870	11	151,74	26	4,00	145,57	40	5,90	35,59			52,52		
	1,0074	2,06	0,9866		151,77	110	16,92	145,57	10	1,48	150,66			13,14		
SRM 2711	1,0241	1,69	1,0068		152,30	30	4,54	145,30	20	2,89	37,18	31,07	5,99	23,65	25,74	3,24
	1,0074	1,69	0,9904	12	152,40	20	3,08	145,61	20	2,94	25,21			24,09		
	0,8239	1,69	0,8100		152,28	20	3,76	145,70	20	3,60	30,80			29,47		
CRM 025	1,0083	3,45	0,9735		151,77	1100	171,49	144,93	560	83,37	30,47	28,20	2,02	14,81	11,24	3,46
300µ	1,0157	3,45	0,9807	563	151,86	1000	154,85	145,27	300	44,44	27,52			7,90		
	1,0185	3,45	0,9834		151,78	970	149,72	145,02	420	61,94	26,60			11,01		

DETERMINATION DE LA BIOACCESSIBILITE DU CUIVRE

Sol	Poids sol humide (g)	Teneur en eau (%)	Poids sol sec (g)	Cu total (mg/kg sol sec)	Volume φ Gastr. (mL)	Cu φ Gastr. (μg/L)	Cu gastr. (mg/kg g sol sec)	Volume φ Intest. (mL)	Cu φ Intest. (μg/L)	Cu intest. (mg/kg sol sec)	Cu bioaccess. gastrique (%)	Cu bioacc. gastr. Moyen (%)	écart type	Cu bioaccessible intestinal (%)	Cu bioacc. intest. Moyen (%)	écart type
1A	1,0066	0,79	0,9986		151,77	3341	508	145,17	3648	530	53,78	60,85	6,17	56,17	58,95	2,57
	1,0023	0,79	0,9943	944	151,73	3941	601	145,61	3948	578	63,69			61,23		
	1,0063	0,79	0,9983		151,82	4041	615	145,62	3848	561	65,09			59,45		
1B	1,0134	0,71	1,0062		151,89	2654	401	146,51	2444	356	67,04	63,68	7,72	59,55	55,72	4,75
	1,0061	0,71	0,9989	598	152,00	2154	328	147,20	2044	301	54,85			50,40		
	1,0205	0,71	1,0132		152,04	2754	413	147,74	2344	342	69,15			57,19		
1C	1,0599	1,08	1,0485		151,84	621	90	146,08	540	75	47,66	46,87	7,08	39,87	40,48	0,80
	1,0132	1,08	1,0023	189	151,84	491	74	146,16	520	76	39,42			40,19		
	1,0052	1,08	0,9944		151,92	661	101	146,55	530	78	53,52			41,39		
2A	1,0118	7,16	0,9393		151,92	7555	1 222	146,32	6258	975	44,78	48,99	8,95	35,72	30,24	4,76
	1,0134	7,16	0,9408	2 729	151,91	7255	1 171	146,36	4758	740	42,93			27,13		
	1,0130	7,16	0,9404		152,80	9955	1 617	153,60	4658	761	59,27			27,88		
2B	1,0023	6,86	0,9335		151,84	5671	922	146,22	4571	716	25,77	25,17	0,72	20,01	20,70	1,26
	1,0011	6,86	0,9324	3 579	151,89	5571	908	145,79	5071	793	25,36			22,15		
	1,0041	6,86	0,9352		151,87	5371	872	146,07	4571	714	24,37			19,95		
2C	1,0018	8,23	0,9193		151,88	2710	448	146,16	1730	275	27,39	25,38	1,74	16,83	19,40	3,64
	1,0002	8,23	0,9178	1 635	151,86	2410	399	145,46	2430	385	24,39			23,56		
	1,0014	8,23	0,9189		151,86	2410	398	146,10	1830	291	24,36			17,80		
3A	1,1958	0,62	1,1884		151,78	4127	527	146,22	3832	471	99,46	94,42	7,76	88,97	89,41	4,93
	1,1802	0,62	1,1729	530	151,75	4027	521	145,75	4032	501	98,31			94,54		
	1,1213	0,62	1,1143		151,74	3327	453	145,77	3432	449	85,49			84,71		

Détermination de la bioaccessibilité du cuivre (suite)

3B	1,0116	0,28	1,0087	151,71	577	87	145,51	585	84	90,77	89,37	11,59	88,27	88,46	11,84
	1,0118	0,28	1,0089	151,73	637	96	145,63	665	96	100,20			100,40		
	1,0256	0,28	1,0227	151,77	497	74	145,67	515	73	77,15			76,73		
3C	1,0243	0,36	1,0207	151,78	4458	663	145,40	4556	649	74,78			73,21	73,79	0,51
	1,0131	0,36	1,0095	151,74	4258	640	145,74	4556	658	72,20	74,13	1,70	74,20		
	1,0385	0,36	1,0348	151,74	4558	668	145,74	4656	656	75,40			73,97		
4A	1,0423	1,72	1,0243	151,67	4769	706	145,29	4567	648	67,16			61,61	62,21	0,67
	1,0115	1,72	0,9941	151,65	4569	697	145,27	4467	653	66,29	66,81	0,46	62,08		
	1,0236	1,72	1,0060	151,72	4669	704	145,73	4567	662	66,97			62,92		
4B	1,0261	1,77	1,0079	151,71	4634	697	145,53	4025	581	62,29			51,90	58,10	5,98
	1,0212	1,77	1,0031	151,78	5134	777	145,60	4925	715	69,37	65,12	3,75	63,84		
	1,0253	1,77	1,0071	151,76	4734	713	145,97	4525	656	63,70			58,57		
4C	1,0165	1,84	0,9978	151,76	4751	723	145,49	4255	620	59,11			50,75	51,38	1,62
	1,0157	1,84	0,9970	151,69	4851	738	145,60	4455	651	60,37	60,84	2,01	53,22		
	1,0139	1,84	0,9952	151,86	5051	771	146,88	4155	613	63,04			50,16		
SRM 2710	1,0072	2,06	0,9864	151,74	9731	1 497	145,34	9045	1 333	55,67			49,56	46,49	2,78
	1,0078	2,06	0,9870	151,74	9931	1 527	145,57	8345	1 231	56,78	55,85	0,86	45,77		
	1,0074	2,06	0,9866	151,77	9631	1 482	145,57	8045	1 187	55,10			44,15		
SRM 2711	1,0241	1,69	1,0068	152,30	190	29	145,30	140	20	30,91			21,73	20,66	1,48
	1,0074	1,69	0,9904	152,40	210	32	145,61	120	18	34,75	34,01	2,81	18,97		
	0,8239	1,69	0,8100	152,28	180	34	145,70	110	20	36,39			21,28		

DETERMINATION DE LA PRISE D'ARSENIC JOURNALIERE PAR UN ENFANT

Sol	As total sol < 2 mm (mg/kg)	As bioaccessible (intestinal) %	Dose As ingéré (µg/j)	Prise As ingéré (µg/kg/j)	As ingéré par site (µg/kg/j)
1A	170	28,3	2,41	0,14	0,09
1B	94	26,8	1,26	0,07	
1C	77	25,0	0,96	0,05	
2A	170	59,1	5,02	0,28	0,27
2B	160	46,7	3,74	0,21	
2C	170	66,3	5,63	0,32	
3A	160	47,7	3,82	0,21	0,22
3B	110	51,2	2,81	0,16	
3C	200	53,5	5,35	0,30	
4A	170	30,8	2,62	0,15	0,12
4B	120	27,1	1,62	0,09	
4C	170	25,9	2,20	0,12	
	147,6	40,7	3,12	0,18	Moyenne
	37,65	14,92	1,59	0,09	Ecart-type

DETERMINATION DE LA PRISE DE CUIVRE JOURNALIERE PAR UN ENFANT

Sol	Cu sol < 2mm (mg/kg)	Cu bioaccessible (intestinal) %	Dose Cu ingéré (µg/j)	Prise Cu ingéré (µg/kg/j)	Cu ingéré par site (µg/kg/j)
1A	720	58,9	21,22	1,19	0,68
1B	390	55,7	10,86	0,61	
1C	210	40,5	4,25	0,24	
2A	2100	30,2	31,75	1,78	1,94
2B	4300	20,7	44,51	2,50	
2C	2800	19,4	27,15	1,53	
3A	610	89,4	27,27	1,53	1,28
3B	330	88,5	14,60	0,82	
3C	720	73,8	26,57	1,49	
4A	660	62,2	20,53	1,15	1,15
4B	730	58,1	21,21	1,19	
4C	770	51,4	19,78	1,11	
	1 195	54,1	22,48	1,26	Moyenne
	1 239	23,36	10,34	0,58	

Ecart-type