

PYRÈNE

Dernière mise à jour : 23/02/05

RESPONSABLE DU PROGRAMME

A. PICHARD : annick.pichard@ineris.fr

EXPERTS AYANT PARTICIPÉ A LA RÉDACTION

M. BISSON - C. HULOT - S. JOACHIM - G. LACROIX - J.P. LEFEVRE -
L. MALLERET

DOCUMENTATION

C. GILLET

Afin d'avoir une meilleure compréhension de cette fiche, les lecteurs sont invités à se référer à la méthodologie de renseignements.

PYRÈNE

SOMMAIRE

1. GÉNÉRALITÉS	5
1.1 Identification/caractérisation	5
1.2 Principes de production	5
1.3 Utilisations	5
1.4 Principales sources d'exposition	5
2. PARAMÈTRES D'ÉVALUATION DE L'EXPOSITION	6
2.1 Paramètres physico-chimiques	6
2.2 Comportement	8
2.2.1 Dans l'eau	8
2.2.2 Dans les sols	8
2.2.3 Dans l'air	8
2.3 Persistance	8
2.3.1 Dégradation abiotique	8
2.3.2 Biodégradation	8
2.4 Bio-accumulation et métabolisme	9
2.4.1 Organismes aquatiques	9
2.4.2 Organismes terrestres y compris les végétaux	10
3. DONNÉES TOXICOLOGIQUES	10
3.1 Devenir dans l'organisme	11
3.2 Toxicologie aiguë	12
3.3 Toxicologie chronique	12
3.3.1 Effets systémiques	12
3.3.2 Effets cancérigènes	13

PYRÈNE

3.3.3 Effets sur la reproduction et le développement	14
3.4 Valeurs toxicologiques de référence	14
3.4.1 Valeurs toxicologiques de l'ATSDR, l'US EPA et l'OMS	15
3.4.2 Valeurs toxicologiques de de Santé Canada, du RIVM et de l'OEHHA	15
4. DONNÉES ÉCOTOXICOLOGIQUES	16
4.1 Paramètres d'écotoxicité aiguë	16
4.1.1 Organismes aquatiques	16
4.1.2 Organismes terrestres	18
4.2 Paramètres d'écotoxicité chronique	18
4.2.1 Organismes aquatiques	18
4.2.2 Organismes terrestres	19
5. VALEURS SANITAIRES ET ENVIRONNEMENTALES	19
5.1 Étiquetage - Milieu de travail	19
5.2 Nomenclature Installations classées (IC)	19
5.3 Valeurs utilisées en milieu de travail - France	19
5.4 Valeurs utilisées pour la population générale	20
5.4.1 Qualité des eaux de consommation	20
5.4.2 Qualité de l'air	20
5.4.3 Valeurs moyennes dans les milieux biologiques	20
5.5 Concentrations sans effet prévisible pour l'environnement (PNEC).	20
Propositions de l'INERIS	20
5.5.1 Compartiment aquatique	21
5.5.2 Compartiment sédimentaire	21
5.5.3 Compartiment terrestre	21
6. MÉTHODES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION DANS L'ENVIRONNEMENT	22
6.1 Familles de substances	22
6.2 Principes généraux	22
6.2.1 Eau	22
6.2.2 Air	23

PYRÈNE

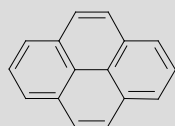
6.2.3 Sols	24
6.3 Principales méthodes	25
6.3.1 Présentation des méthodes	25
6.3.2 Tableau de synthèse	31
7. BIBLIOGRAPHIE	32

PYRÈNE

1. GÉNÉRALITÉS

1.1 Identification/caractérisation

Substance chimique	N° CAS	N° EINECS	Synonymes	Forme physique
Pyrène $C_{16}H_{10}$	129-00-0	204-927-3	Benzo(def)phenanthrène Beta-pyrene Pyrene, benzo(def)phenanthrene	solide cristallisé sous forme de tablettes



(*) dans les conditions ambiantes habituelles

1.2 Principes de production

Le goudron de charbon contient en moyenne 2 % de pyrène. Celui-ci est extrait d'une fraction se cristallisant au-dessus de 110 °C obtenue par redistillation d'huile d'antracène à haut point d'ébullition, ou à partir d'un distillat de brai.

1.3 Utilisations

Outre ses applications en recherche, le pyrène est utilisé pour la fabrication de teintures, dans la synthèse de substances utilisées en optique pour leur brillance, et comme additif dans les huiles d'isolation électrique.

1.4 Principales sources d'exposition

Le pyrène est présent dans les combustibles fossiles. Il est libéré dans l'atmosphère lors de la combustion incomplète de charbon et de produits pétroliers : huile, essence, fioul. Des concentrations de 19,2 ng/m³ et 35,1 ng/m³ ont été mesurées respectivement dans les gaz d'échappement de véhicules essence et Diesel (HSDB, 2002).

Le pyrène est également présent dans le goudron des revêtements routiers (teneur pouvant atteindre 4,2 %) (OMS IPCS, 1998). Verschueren (2001) cite d'autre part les valeurs suivantes : 1,5 à 1,7 ng/kg dans l'essence, 23 à 41 mg/L dans le fioul, 3,5 et 4,5 mg/L dans des huiles brutes, jusqu'à 750 mg/L dans des huiles moteur usagées et 20 g/L dans de la créosote provenant de goudron de charbon.

La production d'aluminium, de fer et d'acier, les fonderies, la combustion de déchets et la fumée de tabac constituent également des sources d'exposition de l'environnement au pyrène.

PYRÈNE

Concentrations ubiquitaires

Milieu	Concentration
Air	< 1 ng/m ³ (1)
Eau	
eaux de surface	≅ 1 ng/L (2)
eaux de pluie	< 100 ng/L(3)
Sol	< 20 µg/kg (5)
Sédiments	< 500 µg/kg (6)

1. Valeur estimée sur la base de données fournies par OMS IPCS (1998) pour différents pays d'Europe et par HSDB (2002) pour des sites situés en Méditerranée et au Royaume Uni.
2. Valeur estimée sur la base de données fournies par HSDB (2002) relatives aux eaux de lac et de mer. Il n'y a pas de données disponibles pour les eaux de rivière.
3. Valeur estimée sur la base de données fournies par HSDB (2002) et OMS IPCS (1998).
4. Valeur estimée sur la base de données fournies par OMS IPCS (1998).
5. Valeur estimée sur la base de données fournies par ATSDR (1995).
6. ATSDR (1995).

2. PARAMÈTRES D'ÉVALUATION DE L'EXPOSITION

2.1 Paramètres physico-chimiques

Paramètre	Valeur	Étendue	Référence
Facteur de conversion (dans l'air à 20 °C)	1 ppm = 8,41 mg/m ³ 1 mg/m ³ = 0,119 ppm		
Seuil olfactif (ppm)	Non disponible		
Masse molaire (g/mol)	202,26 ₍₁₎	202,24 - 202,3	HSDB (2002), Lide (1997), Ullmann (1989), Verschueren (2001)
Point d'ébullition (°C) (à pression normale)	404 ₍₁₎	393 - 404	ATSDR (1995), Guide de la chimie (2002), HSDB (2002), Lide (1997), Merck (1996)
Pression de vapeur (Pa)	(2)	1,2.10 ⁻² - 6,0	ATSDR (1995), HSDB (2002) OMS IPCS (1998)
Densité -vapeur (par rapport à l'air)	6,98		
-solide	d ₄ ²³ : 1,271		ATSDR (1995), Guide de la chimie (2002), HSDB (2002), Merck (1996), OMS IPCS (1998)

PYRÈNE

Tension superficielle (N/m)	Non concerné		
Viscosité dynamique (Pa.s)	Non concerné		
Solubilité (mg/L) dans l'eau	0,13 à 25 °C		ADEME (1995), HSDB(2002), OMS IPCS (1998),
Log Kow	5,32 ⁽³⁾	4,88 - 5,32	US EPA (1996), OMS IPCS (1998), Verschueren (2001), Hansch (1995), Ryan (1988)
Koc (L/kg)	67 992 ⁽⁴⁾	43 807 - 13 3590	US EPA (1996)
Coefficient de partage sol-eau : Kd (L/kg)	⁽⁵⁾		
Coefficient de partage sédiments-eau : Kd (L/kg)	⁽⁵⁾		
Coefficient de partage Matière en Suspension- eau : Kd (L/kg)	⁽⁵⁾		
Constante de Henry (Pa.m ³ /mol)		1,1 10 ⁻³ à 25 °C	US EPA (1996), OMS IPCS (1998)
Coefficient de diffusion dans l'air (cm ² /s)	2,72 10 ⁻² à 25 °C		US EPA (1996)
Coefficient de diffusion dans l'eau (cm ² /s)	7,24 10 ⁻⁶ à 25 °C		US EPA (1996)
Coefficient de diffusion à travers le PEHD (m ² /j)	Non disponible		
Perméabilité cutanée à une solution aqueuse (cm/h)	Non disponible		

Choix des valeurs :

- (1) Valeur la plus fréquemment citée
- (2) La dispersion des données est trop importante pour choisir correctement une valeur
- (3) Valeur la plus fréquemment citée

PYRÈNE

(4) Moyenne géométrique de 27 valeurs

(5) La valeur pourra être calculée à partir de l'expression suivante : $K_d = f_{oc} \times K_{oc}$ (suivant l'hypothèse d'une adsorption sur la seule fraction organique du sol, du sédiment ou des matières en suspension, ce qui revient à négliger l'adsorption sur la fraction minérale et qui conduit à majorer le transfert du sol vers l'eau ou l'air). La valeur de f_{oc} est issue de mesure de terrain ou par défaut d'une valeur issue de la littérature, par exemple celle du TGD (CE, 1996), de 0,02 pour f_{oc_sol} , de 0,05 pour f_{oc_sed} , de 0,1 pour f_{oc_mes} .

2.2 Comportement

2.2.1 Dans l'eau

Le pyrène se volatilise à partir de l'eau.

2.2.2 Dans les sols

La mobilité du pyrène est négligeable dans le sol.

2.2.3 Dans l'air

Le pyrène est sous forme vapeur et particulaire dans l'atmosphère.

2.3 Persistance

2.3.1 Dégradation abiotique

Le pyrène peut subir le phénomène de photolyse dans les sols superficiels.

Dans l'air, le pyrène est dégradé en réagissant avec des radicaux hydroxyles formés par réactions photochimiques. Sa demi-vie due à ces réactions est de 8 h pour une concentration de $5 \cdot 10^5$ radicaux hydroxyles/cm³ (ATSDR, 1995).

2.3.2 Biodégradation

Eaux de surface

Le pyrène ne se dégrade pas facilement dans les eaux de surface : des demi-vies allant de 1 à 10 ans ont été estimées (Howard *et al.*, 1991).

Sol

Le pyrène ne se dégrade pas facilement dans les sols : des demi-vies allant de 210 jours à 5,2 années ont été mesurées (Howard *et al.*, 1991).

Sédiments

Aucune information n'est disponible mais on peut supposer que la dégradation est lente.

PYRÈNE

Eaux souterraines

La présence de solvants organiques mobiles dans les sols peut être à l'origine de la contamination des eaux souterraines par des phénomènes de lixiviation.

Dans ces eaux considérées comme anoxiques des demi-vies de 2,3 à 20,8 années ont été estimées (Howard *et al.*, 1991).

2.4 Bio-accumulation et métabolisme

2.4.1 Organismes aquatiques

Organismes benthiques

Dans les sédiments, le taux d'accumulation du pyrène dans les organismes benthiques dépend de plusieurs facteurs dont :

- le temps d'exposition
- la nature du sédiment
- les taux d'absorption et de désorption par les organismes (varie d'un individu à un autre)
- le comportement de l'organisme durant la période d'exposition (alimentation, évitement, reproduction).

De plus, la disponibilité des HAP aux organismes benthiques détritivores est très inférieure à celle d'autres substances possédant des propriétés physico-chimiques similaires (Landrum et Faust, 1991 ; Tracey et Hansen, 1996). La séquestration des HAP dans la matière organique sédimentaire serait à l'origine de cette faible biodisponibilité (Kraaij *et al.*, 2001 ; Van Hoof *et al.*, 2001).

Une accumulation du pyrène dans les tissus de *Lumbriculus variegatus* (Leppanen et Kukkonen, 1998 ; Kukkonen et Landrum, 1994) et *Eisenia Andrei* (Jager *et al.*, 2000) a été observée. Ces auteurs ont montré que l'absorption du pyrène a lieu plus par ingestion de nourriture que par simple diffusion venant des eaux interstitielles. De ce fait, le facteur de bioaccumulation serait indépendant du coefficient de partage eau/octanol.

Microcrustacés

Le taux d'accumulation du pyrène a été étudié chez la daphnie. Au bout de 24 heures, l'équilibre entre les concentrations dans l'eau et les organismes a été atteint.

Un BCF (24 h) de 2 700 a ainsi pu être calculé (Newsted et Giesy, 1987).

PYRÈNE

Poissons

- *Poecilia reticulata* : BCF (7 jours) : 4 810

Le test a été effectué en semi- statique pendant 7 jours. Au début de l'essai, la concentration en pyrène était de 121 µg/L correspondant à la limite de solubilité de la substance. Les mesures de concentration dans le milieu aquatique ainsi que dans les tissus des poissons ont été effectuées par la méthode HPLC avec détection UV (De Voogt *et al.*, 1991).

Petersen et Kristensen (1998) ont effectué un essai de bioaccumulation du pyrène sur les œufs et/ou les stages larvaires du poisson zèbre, de la morue et du hareng. Les tests semi-statiques d'une durée de 28 jours ont permis un suivi par traçage radioactif des concentrations de pyrène dans l'eau et dans les organismes. Les BCFs suivants ont été calculés :

- *Brachydanio rerio*

Oeuf : BCF: 10 000

Larves (age début exposition: 7 jours) : BCF: 54 954

- *Gadus morhua* (Larves de 7 jours) BCF: 60 255
- *Clupea harengus* (Larves de 7 jours) BCF: 97 724

Le pyrène est donc une substance susceptible de se bioaccumuler chez les poissons et les microcrustacés.

2.4.2 Organismes terrestres y compris les végétaux

Aucun résultat d'essai valide permettant de dériver des facteurs de bioconcentration dans les végétaux n'a pu être trouvé dans la littérature.

3. DONNÉES TOXICOLOGIQUES

L'ensemble des informations et des données toxicologiques provient de diverses monographies publiées par des organismes reconnus pour la qualité scientifique de leurs documents (IARC, 1983, 1987 ; ATSDR, 1995 ; OMS IPCS, 1998). Les références bibliographiques aux auteurs sont citées pour permettre un accès direct à l'information scientifique mais n'ont pas fait l'objet d'un nouvel examen critique par les rédacteurs de la fiche.

En l'absence de certaines données spécifiques sur la toxicité du pyrène ou à défaut de données générales sur les hydrocarbures aromatiques polycycliques il peut être utile de se reporter à la fiche sur le benzo(a)pyrène, ce dernier étant l'hydrocarbure aromatique polycyclique le plus étudié.

PYRÈNE

Nous invitons également le lecteur à lire le rapport INERIS (Doornaert et Pichard, 2003) 'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) : évaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérigènes : Approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélange ; évaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérigènes : Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR)'. Ce rapport est disponible sur le site Internet de l'INERIS (<http://www.ineris.fr>) et sur le portail substances chimiques (<http://chimie.ineris.fr>).

3.1 Devenir dans l'organisme

Études chez l'homme

Chez l'homme les principales voies de pénétration des hydrocarbures aromatiques polycycliques sont l'inhalation, la voie orale et la voie dermique (ATSDR, 1995).

Une application cutanée de goudron de houille chez le volontaire sain pendant 8 heures 2 jours consécutifs montre que le pyrène passe la barrière cutanée (Storer *et al.*, 1984). Une autre étude montre la présence d'1-hydroxypyrène dans les urines chez un patient traité avec un shampoing aux goudrons et une solution de 500 µg de pyrène en solution dans du toluène (Viau et Vyskocil, 1995).

Il n'existe pas de données chez l'homme relatives à la distribution des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'organisme.

Le caractère lipophile des hydrocarbures aromatiques polycycliques leur confère une grande facilité à franchir les membranes cellulaires et leur permet d'être stockés dans les différents tissus. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont métabolisés en composés plus hydro-solubles ce qui facilite leur élimination. Ce métabolisme est observé dans les différents tissus, il utilise de nombreux systèmes enzymatiques. Les analogies structurales entre les différents hydrocarbures aromatiques polycycliques sont à l'origine d'analogies de métabolisme.

La plupart des hydrocarbures aromatiques polycycliques sont excrétés dans les fèces et les urines.

Études chez l'animal

L'administration de pyrène par voie orale a été réalisée chez le rat à raison d'une dose de 20 mg/kg de pyrène en solution dans un mélange de tween 80 et d'une solution saline isotonique. Un pic sanguin de concentrations en pyrène est mesuré 1 à 2 heures après l'administration (Lipniak et Brandys, 1993).

Chez le rat Wistar exposé à une solution de 14C-pyrène dans l'acétone l'absorption cutanée est relativement rapide (1/2 vie de 0,5 à 0,8 jour). Les concentrations sont élevées dans le foie, les reins, et les graisses. La présence de concentrations élevées en métabolites du pyrène est observée dans les poumons (Withey *et al.*, 1993).

PYRÈNE

Environ 50 % de la dose appliquée à raison de 2, 6 ou 15 mg/kg de poids corporel sont excrétés dans les urines et les fecés au cours des 6 premiers jours suivant l'application cutanée (Withey *et al.*, 1993).

Le 1-hydroxy, 1,6-, 1,8-dihydroxy et le 4,5-dihydrodiol sont des métabolites du pyrène identifiés chez le rat ou le lapin (Boyland et Sims, 1964). De plus, deux dérivés trihydroxy ont pu être isolés après incubation de pyrène dans des préparations de foie de rat (Jacob *et al.*, 1982).

3.2 Toxicologie aiguë

Études chez l'homme

A notre connaissance, il n'existe pas de donnée disponible.

Études chez l'animal

Chez 6 cobayes exposés à 5 µmol-5 mmol de pyrène en solution dans l'éthanol une réaction phototoxique importante est observée 20 heures après une exposition aux UV-A à 320-440 nm (Kochevar *et al.*, 1982).

3.3 Toxicologie chronique

3.3.1 Effets systémiques

Études chez l'homme

A notre connaissance, il n'existe pas de donnée disponible.

Études chez l'animal

Une seule étude rapporte les effets d'une **action systémique rénale** du pyrène chez l'animal.

20 souris CD-1 mâles et 20 femelles ont été exposées par gavage au pyrène en solution dans l'huile de maïs à des doses de 0, 75, 125 ou 250 mg/kg/j pendant 13 semaines. Des néphropathies caractérisées par la présence de régénérations tubulaires rénales multifocales souvent accompagnées par une infiltration lymphocytaire interstitielle et/ou une fibrose interstitielle localisée sont rapportées chez 4 rats mâles du lot témoin. Ces effets sont observés chez un animal pour chacune des doses faible, moyenne et forte. Des lésions analogues sont également rapportées chez les femelles chez 2 des témoins, 3 des femelles exposées à la plus faible dose (75 mg/kg/j), 7 à la dose moyenne (125 mg/kg/j) et 10 à la plus forte dose (250 mg/kg/j). Les lésions rénales dans chacun des groupes sont considérées comme peu importantes à modérément importantes. Les poids relatifs et absolus des reins sont diminués chez les souris exposées aux 2 plus fortes doses (125 et 250 mg/kg/j). De cette étude un LOAEL de 125 mg/kg/j et un NOAEL de 75 mg/kg/j sont déterminés (US EPA, 1989).

PYRÈNE

Effets systémiques

Substance Chimique	Voies d'exposition	Taux d'absorption		Organe cible	
		Homme	Animal	Principal	Secondaire
Pyrène	Inhalation	ND	ND	ND	
	Ingestion	ND	ND	Rein	
	Cutanée	ND	ND	ND	

3.3.2 Effets cancérigènes

- Classification

L'Union Européenne : non déterminé : la substance n'a pas été examinée.

CIRC - IARC : **Groupe 3** : l'agent (ou le mélange) ne peut être classé pour sa cancérogénicité pour l'homme (IARC, 1987).

US EPA (IRIS) : **Classe D** : substance non classifiable quant à sa cancérogénicité pour l'homme (US EPA (IRIS), 1991).

- Études principales

Études chez l'homme

A notre connaissance, il n'existe pas de donnée disponible.

Études chez l'animal

L'application cutanée d'une solution à 3 % de pyrène dans du benzène deux fois par semaine sur le dos de 40 souris n'induit pas de lésion cutanée au bout de 680 jours d'observation (Badger *et al.*, 1940).

Dans une autre étude un résultat similaire est rapporté lors d'une application cutanée chez la souris d'une solution à 5 % de pyrène 3 fois par semaine pendant un an (le solvant et le degré de pureté du pyrène ne sont pas mentionnés) (Roe et Grant, 1964).

Un groupe de 20 souris mâles C3H a reçu des applications cutanées de 60 µL d'une solution à 0,5 % de pyrène (pureté élevée) dans de la décaline 2 fois par semaine au niveau de la zone intra capulaire pendant 82 semaines. Trois papillomes sont rapportés chez 13 de ces souris à 52 semaines. Un groupe de 15 souris mâles C3H a reçu 60 µL d'un mélange de 0,5 % de pyrène dans de la décaline et de 50 % de n-dodécane deux fois par semaine pendant 82 semaines. A

PYRÈNE

la fin de l'exposition, 2 papillomes et 2 carcinomes sont observés chez les 13 survivants (Horton et Christian, 1974).

2 groupes de 50 souris Swiss femelles ont reçu des applications de 12 ou 40 µg de pyrène (recristallisé) en solution dans 0,1 mL d'acétone 3 fois par semaine. Après 368 et 440 jours de traitement respectivement aucune altération cutanée n'est rapportée au point d'application (Van Durren et Goldschmidt, 1976).

20 souris reçoivent une application cutanée d'une solution de pyrène à 8,3 % dans l'acétone au cours de 10 applications pratiquées à raison de 3 fois par semaine. 25 jours après ce traitement initial, les souris reçoivent 18 applications hebdomadaires d'huile de croton à 0,17 % dans l'acétone. A la fin du traitement à l'huile de croton, 9 papillomes sont observés chez 6 des 20 souris survivantes alors que 4 papillomes sont rapportés chez 4 des 19 survivants du groupe n'ayant pas reçu d'huile de croton (Salaman et Roe, 1956).

Un groupe de 30 souris CD-1 femelles a reçu une application cutanée de 10 µmol de pyrène en solution dans l'acétone. Puis une semaine après, une application bi-hebdomadaire a été pratiquée. Des papillomes sont rapportés chez 5 des 29 survivants (0,21 papillomes /souris) alors qu'aucun papillome n'est rapporté chez les souris exposées uniquement à 10 µmol de TPA (Scribner, 1973).

Caractère génotoxique : La substance n'a pas fait l'objet d'un examen par l'Union Européenne.

3.3.3 Effets sur la reproduction et le développement

Études chez l'homme

A notre connaissance, il n'existe pas de donnée disponible.

Études chez l'animal

A notre connaissance, il n'existe pas de donnée disponible.

3.4 Valeurs toxicologiques de référence

Une Valeur Toxicologique de Référence (VTR) est un indice qui est établi à partir de la relation entre une dose externe d'exposition à une substance dangereuse et la survenue d'un effet néfaste. Les valeurs toxicologiques de référence proviennent de différents organismes dont la notoriété internationale est variable.

L'INERIS présente en première approche les VTR publiées par l'ATSDR, l'US EPA et l'OMS. En seconde approche, les VTR publiées par d'autres organismes, notamment Santé Canada, le RIVM et l'OEHHA, peuvent être retenues pour la discussion si des valeurs existent.

PYRÈNE

3.4.1 Valeurs toxicologiques de l'ATSDR, l'US EPA et l'OMS

Valeurs toxicologiques de référence pour des effets avec seuil

Substance chimique	Source	Voie d'exposition	Facteur d'incertitude	Valeur de référence	Année de révision
Pyrène	US EPA	orale	3000	RfD = $3 \cdot 10^{-2}$ mg/kg/j	1993 révisée

Valeurs toxicologiques de référence pour des effets sans seuil

Non déterminées.

Justification scientifique des valeurs toxicologiques de référence

L'US EPA (IRIS) propose une RfD de $3 \cdot 10^{-2}$ mg/kg/j (1993)

Cette valeur a été établie à partir de l'étude expérimentale de US EPA (1989).

Cette étude a été réalisée chez 20 souris CD-1 par lot et par sexe exposées au pyrène en solution dans l'huile de maïs par gavage aux doses de 0, 75, 125, ou 250 mg/kg/j pendant 13 semaines. L'effet critique retenu est une pathologie rénale tubulaire et une diminution pondérale des reins. De cette étude un NOAEL de 75 mg/kg/j est défini.

Facteurs d'incertitude : un facteur de 3 000 correspondant à un facteur de 10 pour l'extrapolation d'une exposition sub-chronique à chronique, un facteur de 10 pour l'extrapolation des données de l'animal à l'homme, un facteur de 10 pour la variabilité intra-espèce et un facteur de 3 pour prendre en compte le manque de données sur la reproduction et le développement sur une deuxième espèce.

Calcul : $75 \text{ mg/kg/j} \times 1/3\,000 = 0,025 \text{ mg/kg/j}$ soit $3 \cdot 10^{-2} \text{ mg/kg/j}$

3.4.2 Valeurs toxicologiques de Santé Canada, du RIVM et de l'OEHTA

Valeurs toxicologiques de référence pour des effets avec seuil

Non déterminées.

Valeurs toxicologiques de référence pour des effets sans seuil

Substance chimique	Source	Voie d'exposition	Valeur de référence	Année de révision
Pyrène	RIVM	orale	CR _{oral} = 0,5 mg/kg/j	2001

PYRÈNE

Justification scientifique des valeurs toxicologiques de référence

Le RIVM propose un CR_{oral} de 0,5 mg/kg/jour pour une exposition par voie orale (Baars *et al.*, 2001).

Cette concentration correspond à un excès de risque cancérogène de 1.10^4 pour une exposition continue durant toute la vie. Elle est issue des données d'une étude expérimentale par gavage au benzo[a]pyrène chez le rat (0, 3, 10 et 30 mg/kg/j durant 2 ans, 5j/sem) (Kroese *et al.*, 1999). Une augmentation dose-dépendante de l'incidence de tumeurs a été observée dans de nombreux organes et tissus, notamment le foie et l'estomac et également l'œsophage, la peau, la glande mammaire, le canal auditif, la cavité orale, l'intestin grêle et les reins. Les auteurs ont conclu à un excès de risque cancérigène de 1.10^4 pour une exposition vie entière à 0,5 µg benzo[a]pyrène/kg/j. Le RIVM considère une valeur de 0,001 pour le potentiel cancérigène relatif du pyrène par rapport au B[a]P. Le CR_{oral} pour cette substance est donc de 0,5 mg/kg/j.

Selon le RIVM, la fiabilité de cette valeur est élevée.

4. DONNÉES ÉCOTOXICOLOGIQUES

L'objectif de ce document est d'estimer les effets à long terme sur la faune et la flore, les résultats nécessaires à cette évaluation sont présentés. Lorsqu'un nombre suffisant de résultats d'écotoxicité chronique est disponible, les résultats d'écotoxicité aigus ne sont pas fournis. Lorsque l'écotoxicité chronique n'est pas suffisamment connue, les résultats d'écotoxicité aigus sont présentés et peuvent servir de base pour l'extrapolation des effets à long terme.

Les compartiments cibles du pyrène sont les sédiments et les sols (Voir partie 2.2). Une attention particulière devra donc être apportée à ces deux compartiments lors d'une évaluation des risques.

4.1 Paramètres d'écotoxicité aiguë

4.1.1 Organismes aquatiques

	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Référence
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	CL ₅₀ (24 h)	165	Vindimian <i>et al.</i> , 2000
		CL ₅₀ (48 h)	24,6	
Organismes benthiques	<i>Utterbackia imbecillis</i>	CL ₅₀ (24h)	>28,2	Weinstein et Polk, 2001
		CL ₅₀ (24 h-UV)	2,63	

PYRÈNE

Micro-crustacés

L'essai sur *Daphnia magna* a été effectué en utilisant un système statique avec un suivi analytique des concentrations dans le milieu d'essai. Une évolution importante de la toxicité est observée au cours du temps. Des phénomènes de bioaccumulation de la substance durant l'essai pourrait en être à l'origine.

Organismes benthiques

Aucun effet n'est observé sur *Utterbackia imbecillis*, mollusque bivalve, exposé pendant 24 heures a des solutions saturées en pyrène. Par contre, en présence d'un rayonnement UV (UV-A= 70 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$) une augmentation de la toxicité du pyrène se produit (Weinstein et Polk, 2001)

La toxicité des HAP envers les organismes aquatiques (pélagiques et benthiques) peut être accre en présence de rayonnement UV et plus particulièrement les UV-A (Landrum *et al.*, 1987 ; Krylov *et al.*, 1997 ; Newsted et Giespy, 1987 ; US EPA, 1993 ; Hatch et Burton, 1999; Ankley *et al.*, 1994 ; Sinha et Chignell 1983).

Deux types de réactions photochimiques peuvent expliquer l'apparition de ce phénomène

- Mécanisme « externe »

La structure de la molécule de pyrène présente dans le milieu aqueux peut être modifiée sous l'influence de rayonnement UV et en présence d'oxygène. Ces formes modifiées, une fois accumulées dans les organismes provoquent des destructions cellulaires.

- Mécanisme « interne »

Sous l'influence d'un rayonnement UV, un transfert d'énergie a lieu entre le pyrène et la molécule d'oxygène provoquant la formation d'espèces réactives de l'oxygène. Ces formes réactives de l'oxygène sont à l'origine de la destruction des membranes biologiques. La toxicité induite par la lumière serait régie par un mécanisme « interne » avec en premier lieu une accumulation de HAP dans les tissus puis une formation d'espèces réactives après une exposition aux UV.

Ces deux mécanismes agissent de manière simultanée.

Quelques facteurs régissant l'apparition et l'amplitude de cette toxicité sont :

- la quantité de pyrène,
- l'intensité et la durée du rayonnement UV,
- la nature des espèces présentes,
- la nature du milieu considérée.

PYRÈNE

Wernersson et Dave (1997) ont effectué un essai sur daphnie pendant 24 heures, exposant des individus âgées de quatre jours a des solutions saturée en pyrène. Aucun effet n'a été observé. Les mêmes individus ont ensuite été exposés à un rayonnement UV (intensité 0,37 mW/cm²) pendant 2 h. Une augmentation de la toxicité du pyrène après l'exposition aux UVs a été mise en évidence.

Nikkila *et al.*, (1999) ont trouvé le même résultat en exposant *Daphnia magna* pendant 48 heures a des solutions saturées de pyrène en présence de UV-B.

Le même phénomène a également été observé lors d'essais effectués sur les espèces *Mysidopsis bahia*, *Mulinia lateralis* et *Lemna gibba* (Pelletier *et al.*, 1997 ; Ren *et al.*, 1994).

4.1.2 Organismes terrestres

Aucune information n'est disponible.

4.2 Paramètres d'écotoxicité chronique

4.2.1 Organismes aquatiques

	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Référence
Algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CE ₁₀ (72h)	1,2	Vindimian <i>et al.</i> , 2000
Micro-crustacés	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CE ₁₀ (7j)	2,1	

Algues :

L'essai sur *Pseudokirchneriella subcapitata* a été effectué en utilisant un système statique. Les résultats sont basés sur des concentrations mesurées en tenant compte de leur décroissance au cours du temps dans le milieu d'essai.

Micro-crustacés :

L'essai sur *Ceriodaphnia dubia* a été effectué en utilisant un système semi-statique. Les résultats sont basés sur des concentrations mesurées.

Remarque : Aucun résultat n'est disponible sur la phototoxicité pour les essais chroniques. On peut cependant s'attendre à observer les mêmes phénomènes que lors des essais aigus.

PYRÈNE

4.2.2 Organismes terrestres

	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Référence
Collemboles	<i>Folsomia fimetaria</i>	LC50 (21 J)1	53	Sverdrup <i>et al.</i> , 2001
		EC 50 (21 J)2	16	
		EC 10 (21 J)2	10	

Collemboles

Folsomia fimetaria a été exposé à deux concentrations de pyrène dans un sol prélevé dans le milieu naturel contenant 1,6 % de matières organiques. La mortalité des adultes ainsi que le nombre de jeunes en bonne santé ont été pris comme critère d'effet. Les concentrations de la substance ont été suivies dans le milieu. Les résultats sont basés sur les concentrations mesurées.

5. VALEURS SANITAIRES ET ENVIRONNEMENTALES

5.1 Etiquetage - Milieu de travail

France : Arrêté du 20 avril 1994 relatif à la déclaration, la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances chimiques complété jusqu'à la directive 2004/73/CE de la commission du 29 avril 2004 portant la 29^e adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE.

Non concerné.

5.2 Nomenclature Installations classées (IC)

France : Décret n° 53-578 du 20 mai 1953 modifié relatif à la nomenclature des installations classées pour la protection de l'environnement mise à jour par le Ministère de l'écologie et du développement durable « Nomenclature des installations classées pour la protection de l'environnement » (2002).

La liste des rubriques mentionnées est indicative et ne se veut pas exhaustive.

Rubriques : Non concerné.

5.3 Valeurs utilisées en milieu de travail - France

Notes documentaires INRS ND 2098 (2004) "Valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques en France" et ND 2190-191-03 "Indices biologiques d'exposition".

PYRÈNE

- Air : Non concerné.
- Indices biologiques d'exposition : Non concerné.

5.4 Valeurs utilisées pour la population générale

5.4.1 Qualité des eaux de consommation

France : Décret n° 2001 - 1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles.

Non concerné.

UE : Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (CE, 1998).

Non concerné.

OMS : Directives de qualité pour l'eau de boisson (2004)

Non concerné.

5.4.2 Qualité de l'air

OMS : Directives de qualité pour l'air (2000)

L'OMS a établi un Excès de Risque Unitaire par inhalation (ERU_i) pour un mélange de HAP. Cet ERU_i correspond à la probabilité de développer un cancer du poumon après une exposition vie entière à un mélange de HAP. Les effets induits sont attribués au seul benzo[a]pyrène retenu alors comme indicateur. L'ERU_i établi par l'OMS est de $8,7 \cdot 10^{-2}$ par µg de benzo[a]pyrène par m³.

5.4.3 Valeurs moyennes dans les milieux biologiques

Milieux Biologiques	Valeurs de référence
Sang	
Urine	
Cheveux	
Placenta	

5.5 Concentrations sans effet prévisible pour l'environnement (PNEC). Propositions de l'INERIS

Les compartiments cibles du pyrène sont les sédiments et les sols (Voir partie 2.2). Une

PYRÈNE

attention particulière devra donc être apportée à ces deux compartiments lors d'une évaluation des risques.

5.5.1 Compartiment aquatique

Des résultats long terme sur algues, ceriodaphnie sont disponibles. La Commission Européenne (1996) propose donc d'appliquer un facteur d'extrapolation de 100 sur la NOEC de l'espèce la plus sensible.

La NOEC de l'essai sur algue sera utilisée.

D'où :

$$PNEC_{EAU} = 1,2/100 = 0,012 \mu\text{g/L}$$

NB : Ce calcul ne tient pas compte de l'éventuel phénomène d'induction de la toxicité par les rayonnements UV.

5.5.2 Compartiment sédimentaire

La $PNEC_{SED}$ sera estimée par le calcul suivant :

$$PNEC_{sed} (\mu\text{g/kg poids humide}) = (K_{SED-eau}/RHO_{sed}) \times PNEC_{eau} \times 1\ 000$$

$PNEC_{EAU}$ = concentration prévue sans effet pour le compartiment aquatique (**valeur calculé 0,012 $\mu\text{g/L}$**).

RHO_{SED} = densité des matières en suspension (humides) (valeur par défaut : 1 300 kg/m^3)

$K_{SED-EAU}$ = coefficient de partage entre les matières en suspension et l'eau (m^3/m^3)

$$= Feau_{SED} + Fsolid_{SED} \times Kp_{SED} \times RHOsolid$$

$$= 2500 \text{ m}^3/\text{m}^3$$

$Feau_{SED}$: fraction d'eau dans les matières en suspension (défaut : 0,8 m^3/m^3)

$Fsolid_{SED}$: fraction solide dans les matières en suspension (défaut : 0,2 m^3/m^3)

Kp_{SED} : coefficient de partage eau-sédiments (5 000 L/kg d'après la Commission Européenne (1996)).

$RHOsolid$: densité de la phase solide (défaut : 2,5 kg/L)

D'où :

$$PNEC_{SED} = 23 \mu\text{g/kg de poids frais} = 60 \mu\text{g/kg de poids sec}$$

5.5.3 Compartiment terrestre

Un résultat long terme sur collembole est disponible. La Commission Européenne (1996)

PYRÈNE

propose donc d'appliquer un facteur d'extrapolation de 100 sur la EC 10.

D'où :

$$PNEC_{SOL} = 10/100 = 0,1 \text{ mg/kg de poids sec}$$

6. MÉTHODES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION DANS L'ENVIRONNEMENT

6.1 Familles de substances

Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

6.2 Principes généraux

6.2.1 Eau

Prélèvement

Les échantillons d'eau sont prélevés dans des flacons en verre brun munis de bouchons en téflon. Le volume prélevé doit être de 0,5 ou 1 L. Pour les eaux du robinet, il convient de laisser couler l'eau quelques minutes avant de remplir le flacon. Pour les eaux de surface, le flacon doit être immergé dans la masse d'eau et rempli en évitant de prélever la couche d'eau superficielle. Pour les échantillons d'eau chlorés, du thiosulfate doit être ajouté au moment du prélèvement. Les échantillons sont ensuite transportés et/ou stockés à environ +4 °C et à l'abri de la lumière. L'extraction doit être effectuée dans les 24 heures suivant le prélèvement. Si tel n'est pas le cas, il est conseillé d'ajouter le solvant d'extraction directement dans la bouteille de prélèvement et d'agiter les deux phases. Ce pré traitement permet d'allonger la durée de stockage avant extraction à 72 heures.

Extraction

Les HAP contenus dans 100 à 1 000 mL d'eau sont extraits en deux étapes successives par extraction liquide/liquide avec un solvant organique apolaire à peu polaire, tels que l'hexane, le cyclohexane ou le dichlorométhane. Pour des eaux usées (eaux de station d'épuration, eaux de rejet industriel) ou fortement concentrées en HAP, il est conseillé d'effectuer l'extraction sur l'échantillon d'eau dilué avec de l'eau distillée. L'extrait est ensuite séché sur sulfate de sodium anhydre et reconcentré à l'évaporateur rotatif, puis sous flux d'azote. Si nécessaire, pour des eaux de surface ou autres échantillons d'eaux contaminées, l'extrait est purifié sur micro-colonne phase alumine/sulfate de sodium ou gel de silice. Puis, en fonction de la technique choisie pour l'analyse et le dosage des solutés, après reconcentration des extraits, les HAP sont re-dissous dans un solvant approprié.

Remarque : Les HAP étant des composés facilement adsorbés sur les matières en suspension

PYRÈNE

(MES), lors de l'analyse d'eaux usées chargées en MES, la totalité de l'échantillon (i.e. eau non filtrée) doit être analysée. Dans le cas d'eaux de surface, une différenciation entre les concentrations en HAP dissous et non dissous peut s'avérer souhaitable. Ainsi pour une charge importante en matière en suspension (à titre indicatif, MES supérieures à 200 mg/L), il est recommandé de filtrer l'eau et d'extraire séparément la fraction dissoute et la fraction particulaire.

Dosage

L'analyse et le dosage des HAP sont effectués :

Soit par chromatographie en phase liquide (sur phase inverse, colonne greffée C₁₈, phase mobile méthanol ou acétonitrile/eau en isocratique ou en gradient) couplée une détection par spectrophotométrie Ultra-Violet et/ou par fluorimétrie (CLHP/UV et/ou fluorimétrie), avec un dosage par étalonnage externe.

Soit par chromatographie en phase gazeuse (colonne capillaire, phase stationnaire faiblement polaire) couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG/FID), avec un dosage par étalonnage externe ou interne.

6.2.2 Air

Prélèvement

Air ambiant : Un échantillon d'air est directement prélevé à l'aide d'une pompe en propulsant l'air à un débit maximal de 225 L/min à travers un filtre à particules fines (diamètre 102 mm) puis à travers un piège à sorption constitué par de la mousse polyuréthane (PUF) ou de la résine polymère en polystyrène/divinylbenzène (XAD-2). Le volume d'air prélevé ne doit pas dépasser 350 m³.

Extraction

Les filtres et les cartouches d'adsorbant sont extraits par un solvant organique, généralement le dichlorométhane, dans un extracteur de type soxhlet ou bien dans des cuves à ultrasons. L'extrait est ensuite concentré soit par Kuderna-Danish, soit à l'évaporateur rotatif, puis sous flux d'azote. Avant l'analyse, l'extrait est éventuellement purifié sur micro-colonne de silice ou bien par lavage à l'eau suivi d'une ré-extraction des analytes par un solvant.

Dosage

L'analyse et le dosage des HAP sont effectués :

Soit par chromatographie en phase liquide (sur phase inverse, colonne greffée C₁₈, phase mobile méthanol ou acétonitrile/eau en isocratique ou en gradient) couplée une détection par spectrophotométrie Ultra-Violet et/ou par fluorimétrie (CLHP/UV et/ou fluorimétrie), avec un dosage par étalonnage externe.

PYRÈNE

Soit par chromatographie en phase gazeuse (colonne capillaire, phase stationnaire faiblement polaire) couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG/FID) ou à un spectromètre de masse (CPG/SM), avec un dosage par étalonnage externe ou interne (utilisation de HAP deutériés ou d'hydrocarbures paraffiniques ou polyaromatiques comme étalons internes).

6.2.3 Sols

Prélèvement

Les échantillons de sols doivent être prélevés dans des bocaux hermétiques en verre, puis transportés et conservés à l'obscurité et au froid (4 ± 2 °C).

Extraction

Selon la technique d'analyse utilisée par la suite et selon le degré de pollution de l'échantillon étudié, les HAP contenus dans un sol sont extraits :

Par un solvant d'extraction polaire (solution à base de méthanol ou acétone puis éther de pétrole) sous l'effet d'une agitation mécanique. Après filtration ou décantation, l'extrait est analysé. Ce type d'extraction convient pour des dosages immunoenzymatiques ou pour des sols faiblement pollués analysés ensuite par chromatographie en phase liquide. Dans ce dernier cas, préalablement à l'analyse, l'extrait est purifié (lavage à l'eau, séchage et reconcentration de la phase organique avant une éventuelle purification complémentaire sur micro-colonne).

Par un solvant d'extraction faiblement polaire (toluène) dans un extracteur de type soxhlet pendant 4 à 8 heures, pour des sols fortement pollués analysés par la suite en chromatographie en phase liquide.

Par extraction thermique directe opérée par chauffage de l'échantillon à 340°C pendant 3 min dans une chambre d'extraction thermique, les composés étant ensuite piégés par cryogénie en tête de colonne analytique puis analysés par chromatographie en phase gazeuse.

Dosage

L'analyse et le dosage des HAP sont effectués :

Soit par chromatographie en phase liquide (sur phase inverse, colonne greffée C₁₈, phase mobile méthanol ou acétonitrile/eau en isocratique ou en gradient) couplée une détection par spectrophotométrie Ultra-Violet et/ou par fluorimétrie (CLHP/UV et/ou fluorimétrie), avec un dosage par étalonnage externe.

Soit par chromatographie en phase gazeuse (colonne capillaire, phase stationnaire faiblement polaire) couplée à un spectromètre de masse (CPG/SM), avec un dosage par étalonnage interne.

Soit par dosage immunoenzymatique.

PYRÈNE

6.3 Principales méthodes

6.3.1 Présentation des méthodes

A/ISO/DIS 12884 (avril 2000) : Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques en phase gazeuse et particulaire dans l'air ambiant - prélèvement sur filtres à sorption et analyse par chromatographie gazeuse / spectrométrie de masse

Domaine d'application

La présente norme internationale spécifie les procédures de prélèvement, d'extraction et d'analyse permettant de déterminer la concentration, dans l'air ambiant, de 22 HAP, dont le pyrène. Elle décrit le prélèvement des phases gazeuse et particulaire de manière séparée puis leur analyse simultanée. Elle s'applique à l'étude de volume important d'échantillon (100 à 250 L/min) et permet d'atteindre des limites de détection de l'ordre de 0,5 ng/m³ pour un volume de prélèvement de 350 m³. Des tests de validation ont été conduits pour des périodes d'échantillonnage de 24h (fidélité \pm 25 %, incertitude globale \pm 50 %).

Principe

Un échantillon d'air est directement prélevé à l'aide d'une pompe, la phase particulaire étant retenue sur des filtres et la phase gazeuse piégée sur des supports solides. Le filtre et la cartouche d'adsorbant sont extraits simultanément dans un extracteur de type Soxhlet. Après reconcentration, l'extrait est analysé par CPG/SM. Le dosage est effectuée par étalonnage interne (étalons internes : 5 composés deutériés). La concentration combinée de HAP dans l'air répartis en phase gazeuse et en phase particulaire est ainsi mesurée.

Interférences

Les interférences susceptibles de perturber les performances de la méthodes peuvent être liées aux réactifs, aux solvants ou à la verrerie et également à la matrice étudiée (co-extraction d'impuretés). Certains composés, tels que les HAP alkylés (notamment problème de coélution de l'acénaphène méthylique avec le fluorène) ou les HAP hétéroatomiques (quinoléine par exemple), peuvent plus particulièrement être gênants. L'exposition des échantillons à la chaleur, à l'ozone, au dioxyde d'azote ou aux rayonnements ultraviolets, à une étape quelconque du prélèvement, du stockage et de l'analyse, peut entraîner une dégradation des HAP recherchés. La fumée de tabac dans le laboratoire ou dans des parties contiguës peut être la cause d'une contamination des échantillons.

B/US EPA Method TO-13A (janvier 1999) - Détermination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in ambient air using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

PYRÈNE

Domaine d'application

Cette méthode spécifie les procédures de prélèvement, d'extraction et d'analyse permettant de déterminer la concentration, dans l'air ambiant, de 19 HAP, dont le pyrène. Elle décrit le prélèvement des phases gazeuse et particulaire de manière séparée puis leur analyse simultanée. L'utilisation de technique de prélèvement de grand volume (0,22 m³/min) est préconisée. Classiquement, le volume et la durée de prélèvement sont respectivement de 300 m³ en 24 heures.

Principe

Un échantillon d'air est directement prélevé à l'aide d'une pompe, la phase particulaire étant retenue sur un filtre et la phase gazeuse piégée sur un support solide (cartouche en mousse de polyuréthane). Le filtre et la cartouche d'adsorbant sont extraits simultanément dans un extracteur de type Soxhlet. Après reconcentration et purification sur micro-colonne de gel de silice, l'extrait est à nouveau reconcentré puis analysé par CPG/SM. Le dosage est effectué par étalonnage interne (utilisation de HAP deutériés comme étalons internes). La concentration combinée de HAP dans l'air répartis en phase gazeuse et en phase particulaire est ainsi mesurée.

Interférences

Les interférences susceptibles de perturber les performances de la méthodes peuvent être liées aux réactifs, aux solvants ou à la verrerie et également à la matrice étudiée (co-extraction d'impuretés pouvant rendre nécessaire la purification supplémentaire de l'extrait). L'exposition des échantillons à la chaleur, à l'ozone, au dioxyde d'azote ou aux rayonnements ultraviolets, à une étape quelconque du prélèvement, du stockage et de l'analyse, peut entraîner une dégradation des HAP recherchés.

C/NF ISO DIS 17993 (version de février 2000) : Qualité de l'eau - Détermination des 15 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans l'eau par CLHP avec détection fluorescence

Domaine d'application

Cette méthode s'applique à l'analyse de 15 HAP, dont le pyrène, dans les eaux potables et les eaux de surface. Elle peut être étendue à l'analyse d'autres HAP si des essais au laboratoire permettent de démontrer son applicabilité à ces composés supplémentaires. Les limites de détection mentionnées sont de 0,005 µg/L et de 0,01 µg/L, respectivement pour les eaux potables et pour les eaux de surface.

Principe

Les HAP sont extraits de l'eau par extraction liquide/liquide à l'hexane. Après séchage, reconcentration et éventuellement purification sur micro-colonne de silice, le solvant est

PYRÈNE

échangé par du méthanol ou de l'acétonitrile et l'extrait est analysé par CLHP/fluorimétrie. Pour des eaux usées (STEP, eaux de rejet industriel) ou fortement concentrées en HAP, l'extraction est effectuée sur l'échantillon dilué au 1/2 avec de l'eau distillée.

Interférences

Les interférences peuvent être liées à l'échantillonnage et à l'extraction. Les récipients d'échantillonnage et de stockage doivent être constitués de matériaux inertes tels que verre ou acier. Il est recommandé de ne pas utiliser de matières plastiques ou toutes autres matières organiques à cause de leur capacité d'adsorption générant des pertes en HAP. De même pour les échantillonneurs automatiques, il convient d'éviter l'emploi de tubes en silicone ou en caoutchouc. L'évaporation à sec des extraits peut générer des pertes sévères en HAP à 2 ou 3 noyaux.

D'autres interférences peuvent résulter de l'analyse par CLHP. Ainsi tout composé donnant lieu ou atténuant la fluorescence et ayant des propriétés chromatographiques similaires à celles des HAP recherchés peut interférer. En particulier, on signalera des interférences liées à la présence d'autres HAP : problème de séparation pour le naphthalène et le phénanthrène et pour le dibenzo(ah)anthracène et l'indéno(1, 2, 3-cd)pyrène, pics incomplètement résolus. De même, le pérylène est incomplètement résolu du benzo(b)fluoranthène, mais à une longueur d'onde adéquate le pic du pérylène peut être supprimé. Les résidus de solvants employés pour le prétraitement de l'échantillon (hexane, acétone, dichlorométhane) interfèrent sur la qualité de la séparation chromatographique (pic plus large, voire dédoublement de pics) surtout pour les HAP à 2 à 3 noyaux). La présence d'oxygène dissous dans la phase mobile ou éluant peut réduire l'intensité de fluorescence de certains HAP ; il faut donc maintenir la teneur en oxygène dissous la plus faible et la plus constante possible en dégazant l'éluant avec de l'hélium ou sous vide.

Enfin, au cours du prélèvement, de l'extraction et de l'analyse, les échantillons doivent être protégés de l'exposition à la lumière directe du soleil, qui peut entraîner la dégradation des HAP.

D/US EPA method 610 - Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater: Polynuclear aromatic hydrocarbons.

Domaine d'application

Cette méthode s'applique à l'analyse de 16 HAP, dont le pyrène, dans les eaux de rejet municipales ou industrielles. Pour le pyrène, le rendement de la méthode est de l'ordre de 69 %, la limite de détection est de 270 ng/L.

Principe

Les HAP sont extraits de l'eau par extraction liquide/liquide au dichlorométhane, les extraits sont ensuite séchés puis reconcentrés. L'analyse est effectuée soit par CLHP/UV et

PYRÈNE

Fluorimétrie, soit par CPG/FID. En fonction des échantillons étudiés, une procédure de purification des extraits sur gel de silice est également décrite.

Interférences

Des interférences peuvent être liées aux réactifs, aux solvants ou à la verrerie. La matrice étudiée peut également être source d'interférence. De plus, même si les méthodes chromatographiques ont été optimisées pour la détection des HAP, des problèmes d'interférences ou de co-élution peuvent être rencontrés lors de l'analyse de certains échantillons.

E/US EPA method 8100 (septembre 1986) - Polynuclear aromatic hydrocarbons.

Domaine d'application

Cette méthode s'applique à l'analyse de 24 HAP, dont le pyrène, à des concentrations de l'ordre du µg/L, dans les eaux et les sols.

Principe

La méthode décrit la séparation et l'analyse des HAP par CPG/FID. Cette analyse requiert la mise en œuvre préalable d'une étape d'extraction appropriée (US EPA method 3510 ou 3520 pour les eaux et method 3540 ou 3550 pour les sols). Avant dosage, il est recommandé de confirmer l'identité des composés détectés par CPG/SM.

Interférences

Des problèmes d'interférences peuvent être dus aux solvants, aux réactifs ou à la verrerie. Les réactifs et solvants doivent être de haute pureté. Il peut être nécessaire de distiller les solvants pour les purifier. Il convient de montrer par l'analyse de blanc de verrerie que tout le matériel utilisé est exempt d'interférence.

Des interférences peuvent également provenir de la matrice particulière analysée. Il est alors possible de recourir à une purification complémentaire soit classique soit spécifique en fonction du problème rencontré.

F/US EPA method 8310 (septembre 1986) - Polynuclear aromatic hydrocarbons.

Domaine d'application

Cette méthode s'applique à l'analyse, dans les eaux et les sols, de 16 HAP, dont le pyrène, à des limites de concentrations variant de la dizaine de ng/L à la dizaine de µg/L selon la matrice (eau de boisson ou souterraine, sol). Des essais interlaboratoires sur des eaux de référence, des eaux potables, des eaux de surface et des eaux de rejet industriel ont montré que la précision et la justesse de la méthode étaient davantage dépendantes du niveau de concentration analysé sur une gamme variant de 0,1 à 500 µg/L que de la matrice testée.

PYRÈNE

Principe

La méthode décrit la séparation et l'analyse des HAP par CLHP/UV et Fluorimétrie. Cette analyse requiert la mise en œuvre préalable d'une étape d'extraction appropriée (US EPA method 3510 ou 3520 pour les eaux et method 3540 ou 3550 pour les sols).

Interférences

Des problèmes d'interférences peuvent être dus aux solvants, aux réactifs ou à la verrerie. Les réactifs et solvants doivent être de haute pureté. Il peut être nécessaire de distiller les solvants pour les purifier. Il convient de montrer par l'analyse de blanc de verrerie que tout le matériel utilisé est exempt d'interférence.

Des interférences peuvent également provenir de la matrice particulière analysée. Il est alors possible de recourir à une purification complémentaire soit classique soit spécifique en fonction du problème rencontré. Les autres HAP présents ainsi que les artéfacts liés à la matrice peuvent interférer sur l'analyse.

G/FD X 31-610 (novembre 1997) - Qualité du sol : Méthode de détermination semi-quantitative des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les sols - Guide de sélection et d'utilisation des kits de dosage immunoenzymatiques

Domaine d'application

Cette norme s'applique à la détermination des 16 HAP de la liste EPA, dont le pyrène, dans des échantillons de sols. Il s'agit d'une méthode de criblage rapide sur le terrain afin de positionner les échantillons relativement à un ou plusieurs seuils préétablis (par rapport au bas de gamme qui est 1 mg/kg et en général également par rapport à des concentrations de 10 et 100 mg/kg). Cette technique constitue donc un indicateur rapide de la présence éventuelle de HAP dans un sol. Les résultats obtenus sont semi-quantitatifs et doivent être par la suite confirmés ou précisés par des analyses plus fines en laboratoire.

Principe

La méthode décrit la collecte des échantillons, puis leur extraction par agitation dans une solution d'extraction (solution à base de méthanol) suivie d'une filtration et d'une dilution. La concentration en HAP dans les échantillons est ensuite évaluée par dosage immunoenzymatique (double réaction immunologique et enzymatique). Le dosage se fait en comparant la réponse obtenue pour l'échantillon à celle donnée par des étalons de HAP. Le résultat s'exprime en référence à un intervalle de concentrations défini en fonction des étalons.

Interférences

Parmi les interférences signalées figurent les acides humiques, le fer, le pH, les matières en suspension. La probabilité d'avoir de résultats faussement négatifs est non négligeable car

PYRÈNE

l'étape d'extraction est parfois limitante du fait d'une faible efficacité. A l'inverse, de résultats faussement positifs peuvent aussi être obtenus en fonction de la plus ou moins grande spécificité des kits et de leurs affinités notamment pour des HAP substitués ou des composés aromatiques chlorés. Aucune information n'est disponible sur l'affinité de ces kits vis à vis des intermédiaires de dégradation biologique des HAP.

H/US EPA method 4035 (décembre 1996) - Soil screening for polynuclear aromatic hydrocarbons by immunoassay

Domaine d'application

Cette norme s'applique à la détermination des 16 HAP de la liste EPA, dont le pyrène, dans des échantillons de sols. Il s'agit d'une méthode de criblage rapide sur le terrain permettant de déterminer rapidement si la concentration en HAP est supérieure ou inférieure à 1mg/kg.

Principe

La méthode décrit la collecte des échantillons, puis leur extraction et le dosage immunoenzymatique (double réaction immunologique et enzymatique) des HAP par comparaison de la réponse obtenue pour l'échantillon à celle donnée par des étalons de HAP.

Interférences

Tout composé ayant une structure chimique proche de celle des HAP (alkyl HAP, HAP halogénés, HAP substitués) est susceptible d'interférer dans la mesure. Les alkyl HAP, les composés aromatiques chlorés ainsi que d'autres composés aromatiques interagissent aussi sur les anticorps et contribuent donc à générer faussement positifs. Les kits sont optimisés pour réagir avec les HAP à 3 à 4 noyaux. La sensibilité des kits vis à vis des autres HAP est assez variable.

I/US EPA method 8275A (décembre 1996) - Semivolatile organic compounds (PAHs and PCBs) in soils/sludges and solid wastes using thermal extraction/gas chromatography/mass spectrometry (TE/GC/MS)

Domaine d'application

Il s'agit d'une méthode de détermination quantitative rapide des HAP, dont le pyrène, contenus dans un sol. La limite de quantification est estimée à 1 mg/kg et la limite de détection est de l'ordre de 0,01 à 0,5 mg/kg.

Principe

La méthode consiste en une extraction thermique directe des HAP contenus dans le sol suivie d'un piégeage cryogénique et d'une analyse par CPG/SM. Le dosage est effectué par étalonnage interne (utilisation de HAP deutériés ou marqués au ¹³C comme étalons).

PYRÈNE

Interférences

Il convient de vérifier l'absence d'interférence dans les blancs, les échantillons, les standards et les étalons internes. L'analyse d'échantillons de haute concentration peut entraîner l'apparition de pics fantômes (contamination du système) par saturation de la colonne analytique. Dans ce cas, il est nécessaire de reconditionner la colonne analytique et d'analyser à nouveau des blancs.

J/NF ISO 13877 (avril 1999) - Qualité du sol : Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques - Méthode par chromatographie liquide haute performance

Domaine d'application

Cette norme décrit deux méthodes de détermination quantitative des HAP contenus dans un sol selon que l'échantillon est faiblement ou fortement pollué. La gamme de concentration couverte est de l'ordre de 1 à 100 voire 1 000 mg/kg.

Principe

Pour les échantillons faiblement pollués, l'extraction est effectuée sur sol humide par mise en contact de celui-ci avec un solvant d'extraction polaire (ajout en deux étapes d'acétone puis d'éther de pétrole) sous agitation mécanique. Après décantation les composés polaires et l'acétone sont éliminés par lavage de l'extrait à l'eau. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de sodium et reconcentrée, éventuellement une purification complémentaire sur phase alumine est opérée. L'éluat est concentré et l'éther de pétrole est totalement échangé avec de l'acétonitrile. Pour les échantillons fortement pollués, l'extraction est effectuée sur sol séché, avec du toluène, dans un extracteur de type soxhlet pendant 4 à 8 heures. Dans les deux cas, l'analyse et le dosage sont réalisés par CLHP/UV ou fluorimétrie. Le dosage est réalisé par étalonnage externe.

Interférences

Les performances de l'extraction peuvent être diminuées pour des sols contenant une quantité élevée de matières organiques. En fonction de la matrice des interférences chromatographiques peuvent également apparaître. Il convient d'optimiser les conditions de séparation au cas par cas en fonction des échantillons analysés et de ne pas se fier uniquement à la qualité de la séparation obtenue pour l'analyse d'étalons.

6.3.2 Tableau de synthèse

	Air	Eaux	Sols
Prélèvement et pré-traitement	A, B	C, D	G, H, I
Extraction	A, B	C, D	G, H, I, J
Dosage	A, B	C, D, E, F	E, F, G, H, I, J

PYRÈNE

7. BIBLIOGRAPHIE

ADEME (1995) - Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines, ADEME-INRA

Ankley G.T., Collyard S.A., Monson P.D. and Kosian P.A. (1994) - Influence of ultraviolet light on the toxicity of sediments contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environ Toxicol Chem*, **13**, 11, 1791-1796.

ATSDR (1995) - Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). Agency for Toxic substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S Department of Health and Human Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.

Badger G.M., Cook J.W., Hewett C.L., Kennaway E.L., Kennaway N.M., Martin R.H. and Robinson A.M. (1940) - The production of cancer by pure hydrocarbons. V *Proc R Soc London Ser B*, **129**, 439-467.

Baars A.J., Theelen R.M.C., Janssen P.J.C.M., Hesse J.M., van Apeldoorn M.E., Meijerink M.C.M., Verdam L. and Zeilmaker M.J. (2001) - Re-evaluation of human-toxicological maximum permissible risk levels RIVM, Rijnsinstituut voor volksgezondheid en milieu. report 711 701 025.

Boyland E. and Sims P. (1964) - Metabolism of polycyclic compounds. The metabolism of pyrene in rats and rabbits. *Biochem J*, **90**, 391-398.

CE (1996) - European Commission. Technical Guidance Document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) No 1488/94 on risk assessment for existing substances. European Commission. Luxembourg.

CE (1998) - Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998. Communauté européenne. Bruxelles, Belgique.

De Voogt P., Van Hattum B., Leonards P., Klamer J.C. and Govers H. (1991) - Bioconcentration of polycyclic heteroaromatic hydrocarbons in the guppy. *Aquat Toxicol*, **20**, 169-194.

Doornaert B. and Pichard A. (2003) - HAPs - Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets cancérogènes : approche substance par substance (facteurs d'équivalence toxique - FET) et approche par mélanges. Evaluation de la relation dose-réponse pour des effets non cancérogènes : Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR). Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques. Verneuil en Halatte.64 pp

Guide de la chimie (2002) - Nomenclature des produits chimiques. Paris. CHIMEDIT, p 699

Hansch C. and Leo A. (1995) - Exploring QSAR. Fundamentals and applications in chemistry and biology. ACS Professional Reference Book. American Chemical Society. Washington, DC. USA. ISBN 0-8412-2992-9.

PYRÈNE

Hatch A.C. and Burton Jr. G.A. (1999) - Photo-induced toxicity of PAHs to *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixtures and behavior. *Environ Pollut*, **106**, 157-167.

Horton A.W. and Christian G.M. (1974) - Cocarcinogenic versus incomplete carcinogenic activity among aromatic hydrocarbons : Contrast between chrysene and benzo[b]triphenylene. *J Natl Cancer Inst*, **53**, 1017-1020.

Howard P.H., Boethling R.S., Jarvis W.F., Meylan W.M. and Michalenko E.M. (1991) - Handbook of environmental degradation rates. Chelsea, Michigan, Lewis Publisher. H. T. Printup, p 725

HSDB (2002) - Pyrene. Hazardous Substances Data Bank National Library of Medicine. <http://www.toxnet.nlm.nih.gov>.

IARC (1983) - Polynuclear aromatic compounds. Part 1: Chemical, environmental and experimental data - vol 32. IARC. <http://www.inchem.org/documents/iarc/iarc/iarc740.htm>.

IARC (1987) - Pyren- groupe 3. IARC. <http://www.inchem.org/documents/iarc/iarc/iarc740.htm>.

Jacob J., Grimmer G., Raab G. and Schmoltdt A. (1982) - The metabolism of pyrene by rat liver microsomes and the influence of various mono-oxygenase inducers. *Xenobiotica*, **12**, 45-53.

Jager T., Anton Sanchez F.A., Muijs B., Van der Velde E.G. and Posthuma L. (2000) - Toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Eisenia Andrei* (oligochaeta) using spiked soil. *Environ Toxicol Chem*, **19**, 4, 953-961.

Kochevar I.E., Armstrong R.B., Einbinder J., Walther R.R. and Harber L.C. (1982) - Coal tar phototoxicity : Active compounds and action spectra. *Photochem Photobiol*, **36**, 65-69.

Kraaij R.H., Ciarelli S., Tolls J., Kater B. and Belfroid A. (2001) - Bioavailability of lab contaminated and native polycyclic aromatic hydrocarbons to the amphipod *Corophium volutator* relates to chemical desorption. *Environ Toxicol Chem*, **20**, 8, 1716-1724.

Kroese E.D., Muller J.J.A., Mohn G.R., Dortant P.M. and Wester P.W. (1999) - Tumorigenic effects in Wistar rats orally administered benzo[a]pyrene for two years (gavage studies). Implication for human cancer risks associated with oral exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. National Institute of Public Health and the Environment, RIVM draft report n° 658603010.

Krylov S.N., Huang X.-D., Zeiler L.F., Dixon D.G. and Greenberg B.M. (1997) - Mechanistic quantitative structure-activity relationship model for the photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons : I. Physical model based on chemical kinetics in a two-compartment system. *Environ Toxicol Chem*, **16**, 11, 2283-2295.

Kukkonen J. and Landrum P.F. (1994) - Toxicokinetics and toxicity of sediment-associated pyrene to *Lumbriculus variegatus* (*Oligochaeta*). *Environ Toxicol Chem*, **13**, 9, 1457-1468.

PYRÈNE

Landrum P.F. and Faust W.R. (1991) - Effect of variation in sediment composition on the uptake rate coefficient for selected PCB and PAH congeners by the amphipod *Diporeia* sp. *Aquatic Toxicology and Risk Assessment* Vol 14 STP 1124. Philadelphia, American society for testing and materials. B. M. Mayes Ma, vol 10, pp. 263-279.

Landrum P.F., Giesy J.P., Oris J.T. and Allered P.M. (1987) Photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to aquatic organisms. *In: Oil in Freshwater: Chemistry, Biology and Countermeasure Technology*, J. H. Vandermeulen and S. E. Hrudey Eds, Pergamon Books, 304-318.

Leppanen M.T. and Kukkonen J.V. (1998) - Relative importance of ingested sediment and pore water as bioaccumulation routes for pyrene. *Environ Sci Technol*, **32**, 1503-1508.

Lide D.R. (1997) - Handbook of Chemistry and Physics. New York, CRC Press, pp. 3-297, 78nd Ed.

Lipniak M. and Brandys J. (1993) - Toxicokinetics of fluoranthene, pyrene and benz(a)anthracene in the rat. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, **3**, 111-119.

Merck (1996) - The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, Merck and co., Inc. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman and J. F. Kinneary, p 1368, 12th Ed.

Newsted J. and Giesy J.J. (1987) - Predictive models for photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*, Strauss *Cladocera, Crustacea. Toxicol Chem*, **6**, 445-461.

Nikkila A., Penttinen S. and Kukkonen J.V.K. (1999) - UV-B-induced acute toxicity of pyrene to the waterflea *Daphnia magna* in natural freshwaters. *Ecotoxicol Environ Saf*, **44**, 3, 271-279.

OMS (2004) - Guidelines for drinking-water quality. World Health Organization. Geneva, 3rd Ed.

OMS (2000) - Air Quality Guidelines for Europe. World Health Organization. Copenhagen, pp. 102-12, 12nd Ed.

OMS IPCS (1998) - Environmental Health Criteria 202 - Selected non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. World Health Organisation, International Programme on chemical Safety. <http://www.inchem.org>.

Pelletier M.C., Burgess R.M., Ho K.T., Kuhn A., McKinney R.A. and Ryba S.A. (1997) - Phototoxicity of individual polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum to marine invertebrate larvae and juveniles. *Environ Toxicol Chem*, **10**, 2190-2199.

Petersen G.I. and Kristensen P. (1998) - Bioaccumulation of lipophilic substances in fish early life stages. *Environ Toxicol Chem*, **17**, 7, 1385-1395.

Ren L., Huang X.D., McConkey B.J., Dixon D.G. and Greenberg B.M. (1994) - Photoinduced

PYRÈNE

toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons (fluoranthene, pyrene, and naphthalene) to the duckweed *Lemna gibba* L. G-3. *Ecotoxicol Environ Saf*, **28**, 2, 160-171.

Roe F.J.C. and Grant G.A. (1964) - Tests of pyrene and phenanthrene for incomplete carcinogenic and anticarcinogenic activity (abstract). *Br Emp Cancer Campaign*, **41**, 59-60.

Ryan J.A., Bell R.M., Davidson J.M. and O'Connor G.A. (1988) - Plant uptake of non-ionic chemicals from soils. *Chemosphere*, **17**, 12, 2299-2323.

Salaman M.H. and Roe F.J.C. (1956) - Further tests for tumour-initiating activity : N,N-Di(2-chloroethyl)-p-aminophenylbutyric acid (CB1348) as an initiator of skin tumour formation in the mouse. *Br J Cancer*, **10**, 363-378.

Scribner J.D. (1973) - Brief communication: tumour initiation by apparently noncarcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Natl Cancer Inst*, **50**, 1717-1719.

Sinha B. and Chignell C. (1983) - Binding of anthracene to cellular macromolecules in presence of light. *Photochem Photobiol*, **37**, 33-37.

Storer J.S., DeLeon I., Millikan L.E., Laseter J.L. and Griffing C. (1984) - Human adsorption of crude coal tar products. *Arch Dermatol*, **120**, 874-877.

Sverdrup L.E., Kelley A.E., Krogh P.H., Nielsen T., Jensen J., Scott_Fordsmand J.J. and Stenersen J. (2001) - Effects of eight polycyclic aromatic compounds on the survival and reproduction of the springtail *Folsomia fimetaria* L. (*Collembola, isotomidae*). **20**, 6, 1332-1338.

Tracey G.A. and Hansen D.J. (1996) - Use of biota-sediment accumulation factors to assess similarity of nonionic chemical exposure to benthically-coupled organisms of differing trophic mode. *Arch Environ Contam Toxicol*, **30**, 467-475.

Ullmann (1989) - Pyrene. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, VCH. B. Elvers, S. Hawkins, M. Ravenscroft and G. Schulz, vol A13, p 27, 5th Ed.

US EPA (1989) - Mouse Oral Subchronic Toxicity of Pyrene. Study conducted by Toxicity Research, Laboratories, Muskegon, MI for the Office of Solid Waste U.S. Environmental Protection Agency. Washington DC. 042-012. <http://www.epa.gov/epahome/search.html>.

US EPA (1991) - Pyren - classe D, U.S. Environmental Protection Agency. <http://www.epa.gov/epahome/search.html>.

US EPA (IRIS) (1993) - Pyrene - Reference dose for chronic oral exposure (RfD). <http://www.epa.gov/ngispgm3/iris/>.

US EPA (1993) - Sediment quality criteria for the protection of benthic organisms: fluoranthene, U.S. Environmental Protection Agency. Washington. 822/r-93/012.

US EPA (1996) - Soil Screening Guidance: technical background document. <http://www.epa.gov/epahome/search.html>.

PYRÈNE

Van Duuren B.L. and Goldschmidt B.M. (1976) - Cocarcinogenic and tumor-promoting agents in tobacco carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst*, **56**, 1237-1242.

Van Hoof P.L., Kukkonen J.V.K. and Landrum P.F. (2001) - Impact of sediment manipulation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons from field-contaminated and laboratory-dosed sediments by an oligochaete. *Environ Toxicol Chem*, **20**, 8, 1752-1761.

Verschueren (2001) - Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New-York, John Wiley and Sons, Inc, vol 1, p 186, 14th Ed.

Viau C. and Vyskocil A. (1995) - patterns of 1-hydroxypyrene excretion in volunteers exposed to pyrene by the dermal route. *Sci Total Environ*, **163**, 187-190.

Vindimian E., Bisson M., Dujardin R., Flammarion P., Garric J., Babut M., Lamy M.-H., Porcher J.-M. and Thybaud E. (2000) - Complément au SEQ-Eau : méthode de détermination des seuils de qualité pour les substances génotoxiques. Rapport final. INERIS, Agence de l'eau Rhin-Meuse, Verneuil-en-Halatte. 151 pp.

Weinstein J.E. and Polk K.D. (2001) - Phototoxicity of anthracene and pyrene to glochidia of the freshwater mussel *Utterbackia imbecillis*. *Environ Toxicol Chem*, **20**, 9, 2021-2028.

Wernersson A. and Dave G. (1997) - Phototoxicity identification by solid phase extraction and photoinduced toxicity to *Daphnia magna*. *Arch Environ Contam Toxicol*, **32**, 3, 268-273.

Withey J.R., Law F.C.P. and Endrenyi L. (1993) - Percutaneous uptake, distribution and excretion of pyrene in rats. *J Toxicol Environ Health*, **40**, 601-612.