

RAPPORT D'ÉTUDE  
N° 06CR013.doc

01/02/2006

**Détermination de concentrations prédites sans effet pour les organismes aquatiques (PNEC<sub>aqua</sub>) pour les substances de la liste II de la Directive 76/464/CEE**

**Substances traitées en 2005 - Partie I :  
substances organiques (19 substances)**

# Détermination de concentrations prédites sans effet pour les organismes aquatiques (PNEC<sub>aqua</sub>) pour les substances de la liste II de la Directive 76/464/CEE

## Substances traitées en 2005 - Partie I : substances organiques (19 substances)

Verneuil-en-Halatte, Oise

### Client :

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable - Direction de l'Eau  
20, avenue de Ségur  
75302 PARIS 07 SP

### Liste des personnes ayant participé à l'étude :

Alvarez, C.  
Bonnomet, V.  
Bouyé, F

## PRÉAMBULE

Le présent rapport a été établi sur la base des informations fournies à l'INERIS, des données (scientifiques ou techniques) disponibles et objectives et de la réglementation en vigueur.

La responsabilité de l'INERIS ne pourra être engagée si les informations qui lui ont été communiquées sont incomplètes ou erronées.

Les avis, recommandations, préconisations ou équivalent qui seraient portés par l'INERIS dans le cadre des prestations qui lui sont confiées, peuvent aider à la prise de décision. Etant donné la mission qui incombe à l'INERIS de par son décret de création, l'INERIS n'intervient pas dans la prise de décision proprement dite. La responsabilité de l'INERIS ne peut donc se substituer à celle du décideur.

Le destinataire utilisera les résultats inclus dans le présent rapport intégralement ou sinon de manière objective. Son utilisation sous forme d'extraits ou de notes de synthèse sera faite sous la seule et entière responsabilité du destinataire. Il en est de même pour toute modification qui y serait apportée.

L'INERIS dégage toute responsabilité pour chaque utilisation du rapport en dehors de la destination de la prestation.

	<b>Rédaction</b>	<b>Vérification</b>	<b>Approbation</b>
<b>NOM</b>	V. BONNOMET F. BOUYE	E. THYBAUD	A. MORIN
<b>Qualité</b>	Ingénieurs à l'unité Evaluation des Risques Ecotoxicologiques	Responsable de l'unité Evaluation des Risques Ecotoxicologiques	Coordinatrice des programmes Eau
<b>Visa</b>			

## TABLE DES MATIÈRES

<b>TABLE DES MATIÈRES</b> .....	<b>3</b>
<b>RESUME</b> .....	<b>4</b>
<b>1. RAPPEL DU CONTEXTE</b> .....	<b>5</b>
<b>2. METHODOLOGIE POUR L'EVALUATION DU DANGER</b> .....	<b>7</b>
2.1. METHODE DES FACTEURS D'EXTRAPOLATION .....	8
2.2. METHODE STATISTIQUE .....	10
<b>3. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>11</b>
3.1. RECHERCHE DES EVALUATIONS EXISTANTES .....	11
3.2. RECHERCHE DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET COMPORTEMENT DANS LE COMPARTIMENT AQUATIQUE .....	11
3.3. RECHERCHE DES DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES .....	14
<b>4. ANALYSE CRITIQUE DES DONNEES</b> .....	<b>15</b>
4.1. CONCENTRATION DANS LE MILIEU D'ESSAI .....	15
4.2. DUREE DE L'ESSAI .....	16
4.3. EFFETS MESURES .....	16
4.4. VALIDITE DES ESSAIS .....	16
<b>5. SUBSTANCES ETUDIEES ET PROPOSITIONS DE PNEC</b> .....	<b>19</b>
<b>6. REFERENCES</b> .....	<b>21</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>23</b>
<b>SOMMAIRE DES ANNEXES</b> .....	<b>25</b>

## **RESUME**

Ce rapport présente les valeurs de concentrations prédites sans effet pour les organismes aquatiques ( $PNEC_{\text{aqua}}$ ) proposées par l'INERIS pour 19 substances organiques de la liste II de la Directive 76/464/CEE. Quatre autres substances ont été traitées, mais du fait du manque de données, il n'a pas été possible d'en proposer des PNEC.

Les  $PNEC_{\text{aqua}}$  peuvent être assimilées à des normes de qualité pour l'eau, valeurs seuil au delà desquelles il est considéré que la substance peut induire des effets indésirables sur les organismes aquatiques.

La Directive 76/464/CEE ne donne aucune instruction technique sur la procédure à suivre pour déterminer des normes de qualité. La méthodologie explicitée dans la Directive-Cadre sur l'Eau 2000/60/CE (annexe V, §1.2.6) a été suivie. Elle reprend les recommandations du guide technique européen, le "TGD" (*Technical Guidance Document*), utilisé pour l'évaluation des risques des substances existantes, des substances nouvelles ainsi que des substances à usage biocide. Les valeurs proposées pour les  $PNEC_{\text{aqua}}$  sont déterminées sur la base des données d'écotoxicité recherchées dans la littérature. La pertinence et la fiabilité de ces données doivent être ensuite validées. Enfin, le calcul des  $PNEC_{\text{aqua}}$  dépend de la quantité et de la qualité des données écotoxicologiques validées disponibles. Les principes généraux de cette méthodologie sont brièvement rappelés dans ce rapport.

Les fiches de synthèse pour chacune des substances traitées par l'INERIS sont présentées en annexe.

## **1. RAPPEL DU CONTEXTE**

La Directive 76/464/CEE<sup>1</sup> du 4 mai 1976 relative à la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique de la Communauté, définit deux listes de substances polluantes. Les Etats Membres doivent prendre des mesures pour éliminer la pollution des eaux par les substances dangereuses de la Liste I ; ces actions devaient être directement proposées par la Commission Européenne et déclinées dans des "directives-filles". La pollution des eaux par les substances de la Liste II doit être quant à elle réduite, et les mesures à prendre sont laissées à la responsabilité des Etats membres (art. 2 et 7). En 1983, une liste de 132 substances prioritaires a été établie en tant que Liste I.

Mais les insuffisances de la Directive 76/464/CEE (E.C., 2003a) n'ont pas permis d'atteindre les objectifs fixés. Des valeurs limites d'émission et des normes de qualité dans l'eau n'ont été fixées dans des "directives filles" que pour 18 substances seulement. La mise en place de la Directive Cadre sur l'Eau (2000/60/CE)<sup>2</sup> devra permettre de pallier ces insuffisances en offrant un cadre réglementaire amélioré. La méthodologie pour la détermination des normes de qualité est ainsi maintenant clairement explicitée (Annexe V 1.2.6 de la Directive Cadre sur l'Eau)

La liste I de la Directive 76/464/CEE est maintenant abrogée par la liste des substances prioritaires incluses à l'annexe X de la Directive Cadre sur l'Eau. Les normes de qualité pour ces substances prioritaires devraient être définies au niveau européen par la Commission après contributions et avis des Etats membres. L'annexe VIII de la Directive Cadre sur l'Eau propose par ailleurs une liste indicative d'autres substances ("substances polluantes") dont les programmes de réduction de pollution sont entièrement laissés à la responsabilité des Etats Membres. Cela oblige notamment les Etats à définir des normes de qualité et des limites d'émission pour les substances polluantes jugées pertinentes au niveau national. Cela représente potentiellement des milliers de substances. La liste II de la Directive 76/464/CEE, amenée à 139 substances, constitue la base minimale de cette liste de substances polluantes<sup>3</sup>.

La Direction de l'Eau (DE) du Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable (MEDD) a mis en place un programme d'inventaire national des substances polluantes présentes dans les milieux aquatiques. En particulier, les substances de la liste II de la Directive 76/464/CEE ont été recherchées.

En 2005, l'INERIS a déterminé ou révisé des normes de qualité dans l'eau pour 19 substances organiques de la liste II. Quatre autres substances ont été traitées, mais du fait du manque de données, il n'a pas été possible d'en proposer des normes de qualité.

---

<sup>1</sup> Directive 76/464/CEE du Conseil, du 4 mai 1976, concernant la pollution causée par certaines substances dangereuses déversées dans le milieu aquatique de la Communauté. JO n° L 129 du 18/05/1976 p. 0023 - 0029

<sup>2</sup> Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. JO n° L 327 du 22/12/2000 p. 0001 - 0073

<sup>3</sup> La plupart des substances de la liste I qui n'ont pas été considérées ni par les directives filles de la directive 76/464/CEE ni dans la liste des substances prioritaires de la Directive Cadre sur l'Eau, ont été maintenant incluses dans la liste II et doivent être évaluées par les Etats Membres. La Liste II comprend donc maintenant 114 substances issues de la liste I (132 substances initialement dans la liste I, moins les 18 qui ont fait l'objet de directives filles) auxquelles viennent s'ajouter 25 substances mentionnées individuellement dans la Directive 76/464/CEE, à savoir : 20 métaux et métalloïdes, les composés phosphorés, les cyanures, les fluorures, l'ammoniaque et les nitrites.

La méthodologie européenne, décrite dans le "*Technical Guidance Document*" (E.C., 2003b), a été utilisée pour déterminer des concentrations prédites sans effets pour les organismes aquatiques (PNEC<sub>aqua</sub>), assimilables à des normes de qualité pour l'eau (cf. Lepper 2002). Il a également été tenu compte des évaluations des risques éventuellement existantes pour un certain nombre de substances : programmes sur les substances existantes de l'Union Européenne (règlement CEE 793/93<sup>4</sup>) ou OCDE (programme HPVC<sup>5</sup>), homologation des pesticides dans le cadre de la Directive 91/414/CEE<sup>6</sup>, évaluation des dangers précédemment réalisées par d'autres pays ou par d'autres organisations, etc. Par défaut, les données publiées dans la littérature scientifique ont été utilisées après que leur validité ait été évaluée.

---

<sup>4</sup> Règlement (CEE) n° 793/93 du Conseil, du 23 mars 1993, concernant l'évaluation et le contrôle des risques présentés par les substances existantes. JO n° L 084 du 05/04/1993 p. 0001 - 0075

<sup>5</sup> *High Production Volume Chemicals*

<sup>6</sup> Directive 91/414/CEE du Conseil, du 15 juillet 1991, concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. JO n° L 230 du 19/08/1991 p. 0001 - 0032

## **2. METHODOLOGIE POUR L'EVALUATION DU DANGER**

Le danger correspond aux effets indésirables qu'une substance est intrinsèquement capable de provoquer. Les dangers liés aux effets toxiques des substances sont évalués dans la plupart des cas à partir de données obtenues en laboratoires lors d'essais d'écotoxicité. De tels essais ont pour objet la mise en évidence des effets toxiques d'une substance vis-à-vis d'organismes considérés comme représentatifs des écosystèmes et appartenant à différents niveaux trophiques. Néanmoins, les éventuels effets indirects sur les prédateurs et l'homme ne sont pas pris en compte.

Pour évaluer le danger direct pour les organismes aquatiques, on utilise généralement :

- des algues,
- des invertébrés (souvent des micro-crustacés),
- des poissons.

Le plus souvent il s'agit d'essais permettant la mise en évidence d'effets aigus résultant de courtes durées d'exposition (résultats exprimés sous forme de  $LC_{50}$ ,  $IC_{50}$  ou  $EC_{50}$ <sup>7</sup>). Des essais permettant la mise en évidence d'effets chroniques sub-létaux résultant de plus longues durées d'exposition (résultats exprimés sous forme de NOEC ou LOEC<sup>8</sup>) peuvent également être disponibles. Les résultats des essais court terme sont pertinents lors de l'évaluation des effets de pollutions épisodiques ou accidentelles. L'information qu'ils fournissent est moins pertinente lorsqu'il s'agit d'évaluer le risque à long terme d'une substance sur l'environnement. Ils sont cependant moins coûteux que les essais long terme.

Les essais en laboratoire sont menés dans des milieux d'élevage simplifiés et dans des conditions contrôlées afin d'obtenir des résultats de toxicité reproductibles. Les méthodes utilisées pour réaliser ces essais peuvent ainsi se référer à des protocoles expérimentaux standardisés (OCDE<sup>9</sup>, UE<sup>10</sup>, US-EPA<sup>11</sup>, ISO<sup>12</sup>, AFNOR<sup>13</sup>, etc.).

L'évaluation des effets d'une substance peut aussi être réalisée en tenant compte des résultats de tests d'écotoxicité intégrée (microcosmes, mésocosmes, etc.) lorsqu'ils existent.

---

<sup>7</sup>  $LC_{50}$  : Concentration létale pour 50% de la population testée,

$IC_{50}$  : Concentration inhibitrice pour 50% de la population testée,

$EC_{50}$  : Concentration ayant un effets sur 50% de la population testée.

<sup>8</sup> La NOEC (No Observed Effect Concentration) est la concentration maximale testée pour laquelle l'effet observé n'est pas statistiquement différent du témoin.

La LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) correspond à la concentration testée la plus faible qui ait provoquée un effet statistiquement significatif, c'est à dire statistiquement différent du témoin.

<sup>9</sup> [http://www.oecd.org/findDocument/0,2350,fr\\_2649\\_34377\\_1\\_1\\_1\\_1\\_1\\_37465,00.html](http://www.oecd.org/findDocument/0,2350,fr_2649_34377_1_1_1_1_1_37465,00.html)

<sup>10</sup> <http://ecb.jrc.it/testing-methods/>

<sup>11</sup> <http://www.epa.gov/opptsfrs/home/guidelin.htm>

<sup>12</sup>

<http://www.iso.org/iso/en/CatalogueListPage.CatalogueList?ICS1=13&ICS2=60&ICS3=70&scopelist=>

<sup>13</sup>

<http://www.boutique.afnor.fr/Boutique.asp?url=NRM%5Fn%5Fhome%2Easp&lang=French&btq=HOM>

D'un point de vue réglementaire, la PNEC (*Predicted No Effect Concentration* : concentration prédite sans effet pour l'environnement) est la concentration qui caractérise le danger intrinsèque d'une substance. Elle est calculée à partir des résultats d'essais d'écotoxicité. Le mode de calcul dépend de la quantité et de la qualité des données disponibles.

## **2.1. METHODE DES FACTEURS D'EXTRAPOLATION**

Une PNEC peut être extrapolée à partir de résultats d'essais, en supposant que :

- la sensibilité de l'écosystème dépend de l'espèce la plus sensible,
- protéger la structure de l'écosystème protège également son fonctionnement.

Ainsi, les résultats d'essais pour l'espèce la plus sensible à une substance servent à calculer la PNEC. On considère que si cette espèce est protégée, tout le fonctionnement et la structure de l'écosystème sont protégés. Cependant, l'extrapolation des effets pour une espèce à tout un écosystème fait intervenir des facteurs d'extrapolation car il faut prendre en compte :

- les variations entre les expérimentateurs réalisant les essais et entre les laboratoires,
- les variations intra-spécifiques liées à l'état physiologique des individus d'une même espèce,
- les variations inter-spécifiques résultant des différences de sensibilité entre les différentes espèces de l'écosystème,
- les extrapolations de la toxicité à court terme vers le long terme : des effets non décelables à court terme peuvent apparaître à long terme et mettre en danger une population,
- les extrapolations des données de laboratoire qui ne tiennent pas compte de l'état initial de l'écosystème. Des effets additifs, synergiques, ou antagonistes dus à la présence d'autres substances dans le milieu peuvent jouer un rôle et modifier les effets de la substance testée sur la biocénose.

Des facteurs d'extrapolation sont donc appliqués afin de couvrir l'ensemble de ces variations et incertitudes. Plus l'incertitude est importante, plus le facteur choisi sera élevé.

Les conditions d'application des différents facteurs d'extrapolation utilisés pour l'Union Européenne sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Facteurs d'extrapolation pour la détermination de la PNEC aquatique d'après la Table 16 du "Technical Guidance Document" E.C.(2003b)

Informations disponibles	Facteur d'extrapolation
Au moins une LC <sub>50</sub> d'un essai court terme pour chacun des 3 niveaux trophiques standards (poisson, invertébré et algue)	1000 <sup>a</sup>
Une NOEC d'un essai long terme (poisson ou invertébré)	100 <sup>b</sup>
Deux NOEC d'essais long terme pour 2 niveaux trophiques (poisson et/ou invertébré et/ou algue)	50 <sup>c</sup>
Trois NOEC d'essais long terme pour 3 niveaux trophiques (poisson, invertébré et algue le plus souvent)	10 <sup>d</sup>
Données de terrain ou mésocosmes	Évalué au cas par cas <sup>e</sup>

(a) L'utilisation d'un facteur d'incertitude de 1000 permet de protéger l'écosystème de l'ensemble des variations et incertitudes répertoriées ci-dessus, en considérant qu'elles contribuent toutes de façon significative à l'incertitude totale. Pour certaines substances, il est possible qu'une des composantes de l'incertitude soit plus importante ou négligeable par rapport aux autres. Dans ce cas on peut faire varier le facteur en fonction de ces données.

(b) Un facteur de 100 s'applique à la NOEC générée par un essai long terme (invertébré ou poisson) si celle-ci couvre le niveau trophique ayant la plus basse LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>) dans les essais court terme. Dans le cas contraire, on ne peut pas considérer la NOEC comme protectrice des autres niveaux trophiques plus sensibles. Pour déterminer la PNEC aquatique on applique alors un facteur d'incertitude de 1000 à la LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>) la plus faible, sauf si cette PNEC est plus élevée que celle calculée à partir de la seule NOEC.

(c) Un facteur de 50 s'applique à la plus basse de deux NOEC représentant 2 niveaux trophiques lorsque celles-ci couvrent le niveau trophique ayant la plus basse LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>) dans les essais court terme. Dans le cas contraire, la PNEC est calculée à partir de la NOEC la plus faible en utilisant un facteur d'incertitude de 100, sauf si cette NOEC est plus élevée que la plus faible des LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>). Dans ce dernier cas, on applique un facteur 100 sur la plus faible des LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>).

(d) Un facteur de 10 s'applique lorsque des NOEC issues d'essais long terme sont validées pour au moins trois niveaux trophiques différents. La NOEC la plus basse sert à dériver la PNEC aquatique. Cependant, le facteur 10 n'est appliqué à la NOEC la plus faible que si celle-ci correspond à une espèce pouvant être considérée comme représentative du maillon le plus sensible de l'écosystème. Dans le cas où la plus basse NOEC n'a pas été générée avec l'espèce la plus sensible en essai court terme, un facteur de 50 au lieu de 10 est appliqué à la plus basse NOEC pour déterminer la PNEC aquatique, sauf si cette NOEC est plus élevée que la plus faible des LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>). Dans ce dernier cas, on applique un facteur 100 sur la plus faible des LC<sub>50</sub> (ou EC<sub>50</sub>). Un facteur d'incertitude de 10 peut aussi être appliqué à la plus faible de 2 NOEC pour deux niveaux trophiques différents s'il est possible de déterminer avec une grande probabilité que le groupe taxonomique le plus sensible a été étudié, c'est-à-dire qu'une NOEC déterminée pour un autre groupe taxonomique ne serait pas plus faible que les NOEC déjà disponibles. Ce cas peut être illustré avec les insecticides sélectifs (organophosphorés, pyréthrénoïdes, etc.) : ce type de produit sert à détruire les insectes selon un mode d'action connu et spécifique (système nerveux), et il est fort probable que les invertébrés seront alors les plus sensibles.

(e) A la suite d'études en mésocosmes ou de terrain, un facteur d'extrapolation inférieur à 10 peut être appliqué au cas par cas en fonction de la pertinence des données recueillies.

## 2.2. METHODE STATISTIQUE

Pour les substances pour lesquelles un grand nombre de données de toxicité sont disponibles, la méthode des facteurs d'extrapolation peut conduire à sous estimer la valeur de la PNEC. Pour améliorer l'estimation de la PNEC, il est alors possible d'utiliser une méthode d'extrapolation statistique. Cette méthode repose sur l'hypothèse que les NOEC observées sur différentes espèces sont distribuées suivant une loi statistique (e.g. : log-normale, ou log-logistique).

L'utilisation de cette méthode d'extrapolation n'a été acceptée par les groupes techniques de l'Union Européenne, que si au moins 10 (et de préférence 15) NOEC sur des espèces différentes appartenant à 8 groupes taxonomiques différents étaient disponibles. Ces NOEC doivent correspondre à des effets à long terme.

La PNEC est extrapolée en appliquant un facteur d'extrapolation de 1 à 5 au 5<sup>ème</sup> percentile de la distribution de ces données. La valeur du facteur d'extrapolation est choisie au cas par cas suivant les critères suivants :

- diversité et représentativité des espèces et des stades de développement testés,
- qualité des données et des critères d'effets observés (critères d'effets chroniques en particulier),
- connaissance du mode d'action toxicologique de la substance étudiée,
- incertitude dans l'estimation du percentile (conformité entre la distribution observée et théorique, taille de l'intervalle de confiance),
- comparaison avec les données observées en mésocosmes ou lors d'études de terrain.

### **3. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE**

Pour déterminer une PNEC suffisamment représentative du danger intrinsèque de la substance, il est nécessaire de disposer du plus grand nombre possible de résultats d'essais d'écotoxicité. Il est également important de connaître les propriétés physico-chimiques, le comportement et le devenir dans l'eau de la substance pour évaluer la validité de ces essais.

#### **3.1. RECHERCHE DES EVALUATIONS EXISTANTES**

Des évaluations des dangers ont déjà pu être réalisées pour un certain nombre de substances chimiques soit dans le cadre de la réglementation européenne (principalement dans le cadre du règlement sur les substances existantes CEE 793/93)<sup>14</sup> ou de programmes internationaux en particulier l'OCDE (programme HPVC)<sup>15</sup>. Ces évaluations regroupent des données de physico-chimie, de comportement dans l'environnement et d'écotoxicité ayant fait l'objet d'une validation européenne ou internationale et peuvent donc être reprises directement.

D'autres réglementations s'appliquent pour le cas particulier des substances à usage phytopharmaceutique (pesticides). Dans l'Union Européenne, la dangerosité de ces substances doit être évaluée dans le cadre de la Directive 91/414/CEE avant leur homologation pour cet usage. Les évaluations finalisées sont disponibles sur le site de la Direction Générale de la Santé et de la Protection des Consommateurs (DG SANCO) de la Commission Européenne<sup>16</sup>

D'autres sources d'information sont disponibles pour les pesticides :

- rapports RED (*Reregistration Eligibility Decision*) de l'US-EPA, établis dans le cadre du programme de réévaluation régulière des pesticides aux Etats Unis<sup>17</sup>
- rapports du DEFRA établis dans le cadre de l'évaluation des pesticides au Royaume Uni<sup>18</sup>,
- AGRITOX. Cette base de donnée créée par le département de Phytopharmacie et d'Ecotoxicologie de l'INRA rassemble les propriétés physiques et chimiques, la toxicité, l'écotoxicité, le devenir dans l'environnement, les données réglementaires de 500 substances actives phytopharmaceutiques autorisées en France<sup>19</sup>

#### **3.2. RECHERCHE DES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET COMPORTEMENT DANS LE COMPARTIMENT AQUATIQUE**

Le devenir d'une substance dans le milieu aquatique dépend de ses propriétés physico-chimiques (comportement dans la phase aqueuse), de sa stabilité (éventuelles dégradations biotiques ou abiotiques) et de sa potentialité à s'accumuler dans les organismes vivants (bioaccumulation).

---

<sup>14</sup> <http://ecb.jrc.it>

<sup>15</sup> <http://www.olis.oecd.org/exichem.nsf>

<sup>16</sup> [http://europa.eu.int/comm/food/plant/protection/evaluation/exist\\_subs\\_rep\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/food/plant/protection/evaluation/exist_subs_rep_en.htm)

<sup>17</sup> <http://cfpub.epa.gov/oppref/rereg/status.cfm?show=rereg>

<sup>18</sup> [http://www.pesticides.gov.uk/psd\\_evaluation\\_all.asp](http://www.pesticides.gov.uk/psd_evaluation_all.asp)

<sup>19</sup> <http://www.inra.fr/Internet/Produits/agritox/>

Les paramètres physico-chimiques particulièrement importants à prendre en compte sont la solubilité, le coefficient de partage n-octanol/eau, la pression de vapeur et la constante de Henry.

- La solubilité est exprimée en terme de concentration massique de la substance à saturation dans l'eau; elle est fonction de la température. L'unité est le mg/L. Selon la Directive 67/548/CEE, une substance chimique est considérée comme insoluble si la solubilité est inférieure à 1 mg/L.
- Le coefficient de partage n-octanol/eau ( $\log K_{ow}$ ) (sans unité) détermine le partage d'une substance entre l'eau et l'octanol, ce qui permet de donner une indication sur son caractère hydrophobe. Les produits hydrophobes ont tendance à s'adsorber sur les particules sédimentaires et à s'accumuler dans les tissus graisseux. On observe ainsi une relation empirique entre le  $\log K_{ow}$  et le potentiel de bioconcentration. En première approximation, les substances dont le  $\log K_{ow}$  est inférieur à 3 ne sont pas considérées comme bioconcentrables. Mais la relation empirique entre  $\log K_{ow}$  et bioconcentration n'est satisfaisante que pour les substances apolaires. Elle ne peut pas être appliquée pour les substances fortement polarisées.
- La pression de vapeur, exprimée en Pascal (Pa), est la pression à laquelle un liquide et sa vapeur sont en équilibre à une température donnée. Plus la pression de vapeur d'un liquide est élevée, plus ce liquide s'évapore facilement. Elle caractérise ainsi l'aptitude d'une substance à rester dans la phase gazeuse. La pression de vapeur augmente avec la température.
- La constante de Henry (H) caractérise le transfert de la substance de la phase aqueuse à la phase gazeuse. Elle permet donc d'évaluer si une substance aura plutôt tendance à rester dans la phase aqueuse ou à se volatiliser. Son unité est le  $\text{Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ . Selon Lyman (1981), une substance est considérée :
  - très volatile quand  $H > 70 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ ,
  - modérément volatile quand  $0,02 < H < 70 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ ,
  - faiblement volatile quand  $H < 0,02 \text{ Pa}\cdot\text{m}^3\cdot\text{mol}^{-1}$ .

La persistance de la substance dans l'eau dépend de plusieurs phénomènes de dégradations abiotiques ou biotiques : il s'agit principalement de l'hydrolyse, de la photolyse, de la biodégradation.

- L'hydrolyse se traduit par la réaction d'un composé RX avec l'eau, selon l'équation suivante :  $\text{RX} + \text{HOH} \rightarrow \text{ROH} + \text{HX}$ . L'hydrolyse dépend généralement du pH. Il existe une ligne directrice de l'OCDE (ligne directrice 111) pour l'étude de l'hydrolyse des substances solubles dans l'eau.
- La photolyse désigne l'ensemble des dégradations dues à la lumière. Dans l'environnement naturel, la quantité de substance dégradée par photolyse décroît très rapidement avec la profondeur d'eau et avec les quantités de matières organiques dissoutes. La photolyse dépend aussi du spectre d'absorption UV de la substance.
- Pour estimer le potentiel de biodégradation d'une substance, il est possible de tester :
  - Sa biodégradabilité facile (lignes directrices 301 A – F de l'OCDE),
  - Sa biodégradabilité intrinsèque (lignes directrices 302 A – C de l'OCDE),
  - Sa biodégradabilité lors d'essais de simulation en station d'épuration (ligne directrice 303 de l'OCDE).

Les tests de biodégradation sont basés sur la mesure de la diminution de COD (carbone organique dissous), sur la mesure du dégagement de  $\text{CO}_2$  ou sur la mesure de la consommation d'oxygène.

Selon la Directive 67/548/CEE, une substance est considérée "facilement biodégradable" si 60% (pour les essais basés sur la déperdition d'oxygène ou la production de gaz carbonique), voire 70% (pour les essais basés sur le carbone organique dissous) de la substance a été dégradée en 28 jours. En outre, on dit qu'elle respecte le critère de la fenêtre des 10 jours si elle est dégradée à 60% ou 70% (selon la méthode) dans les 10 jours après le début de la dégradation, sachant que celui-ci est considéré comme étant le moment où 10% de la substance testée a été dégradée.

Une substance est considérée "non facilement biodégradable" si ces pourcentages de dégradation ne sont jamais atteints.

Un essai de biodégradabilité intrinsèque est en général effectué quand l'essai de biodégradabilité facile a donné un résultat négatif. Les conditions dans lesquelles se déroule l'essai sont plus favorables à l'adaptation des micro-organismes que les conditions dans lesquelles se déroule un essai de biodégradabilité facile. De plus, il n'y a pas de critère de temps à respecter : la durée de l'essai est de 28 j à plusieurs mois. Une substance est alors considérée "intrinsèquement biodégradable" si sa dégradation est supérieure à 70% (diminution de COD).

Enfin, une substance est considérée "non biodégradable" si elle est ni "facilement biodégradable" ni "intrinsèquement biodégradable".

La bioconcentration se définit comme le résultat net de l'absorption, la distribution et l'élimination d'une substance dans un organisme suite à une exposition via l'eau. Le facteur de bioconcentration (BCF) s'obtient par le rapport de la concentration dans l'organisme et de la concentration dans l'eau, à l'équilibre. Le facteur de bioconcentration peut être déterminé expérimentalement (ligne directrice 305 de l'OCDE) ou par calcul (pour les substances organiques apolaires) en utilisant les relations de type QSAR (*Quantitative Structure Activity Relationship*) qui permettent d'estimer un BCF à partir de la valeur du log Kow. La mesure se fait sur un organisme entier ou sur un organe précis (foie, branchies...). Pour estimer l'exposition des prédateurs, seuls les BCF mesurés sur corps entier de poisson sont retenus. Selon la Directive 67/548/CEE, une substance n'est pas considérée comme bioconcentrable si le BCF est inférieur à 100 ou si le log décimal de son coefficient de partage octanol/eau est inférieur à 3.

Il existe de nombreuses bases de données rassemblant les propriétés physico-chimiques et des informations sur le comportement dans l'environnement d'une substance. On peut citer notamment :

- ECB : Site portail de l'Union Européenne pour l'évaluation de plus de 100 000 substances chimiques, donnant notamment accès à ESIS (*European Chemical Substance Information System*)<sup>20</sup>
- EINECS PLUS : Base de données de l'office Européen des publications proposant un inventaire européen des produits chimiques commercialisés permettant entre autre de trouver un numéro CAS et une classification
- PHYSPROP rassemble des données de physico-chimie pour plus de 25 250 substances chimiques. Ces données sont issues de la littérature, ou estimées par modèles QSARs<sup>21</sup>.
- HSDB (*Hazardous Substance Databank*) : Base de données présentant 4 500 substances potentiellement dangereuses (données physico-chimiques, toxicologie humaine et environnementale)<sup>22</sup>

---

<sup>20</sup> : <http://ecb.jrc.it/esis>

<sup>21</sup> <http://www.syrres.com/esc/physprop.htm>

<sup>22</sup> <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

Il est également possible de trouver des informations dans la littérature scientifique et les handbooks (e.g. Verschueren 2001, Mackay et al. 2000).

### 3.3. RECHERCHE DES DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES

On recherchera en particulier :

- des résultats de tests de toxicité aiguë : estimations de LC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub>, EC<sub>50</sub>,
- des résultats de tests de toxicité chronique : estimations de NOEC ou de EC<sub>10</sub>.
- l'espèce étudiée, son stade de développement (embryon, juvénile, adulte...),
- le critère d'effet mesuré (mortalité, inhibition de croissance, perturbations du développement...),
- les conditions de l'essai, sa durée,
- la référence bibliographique complète de la publication.

On s'intéressera plus particulièrement aux publications qui correspondent aux résultats les plus faibles, c'est à dire celles susceptibles de conditionner directement la valeur de la PNEC.

Il existe de nombreuses sources qui compilent des données d'écotoxicité. On citera en particulier :

- *AQUIRE* : (*AQUatic toxicity Information REtrieval*), base de données de l'Agence de Protection de l'Environnement américaine (US-EPA) qui donne des résultats de test d'écotoxicité, pour de nombreuses substances, sur les organismes aquatiques. Elle est consultable depuis internet<sup>23</sup>
- *IUCLID* (*International Uniform Chemical Information Database*) : base de données éditée sur CD-ROM par le Bureau Européen des Substances Chimiques qui recense les substances chimiques industrielles dont la production est supérieure à 1 000 tonnes par an. Elle est également accessible depuis internet<sup>24</sup>
- *EXICHEM*. Cette base de données de l'OCDE répertorie les différents travaux (fiches d'information, tests, évaluations des risques ou monographies,...) qui ont pu être effectués par les pays membres sur une substance donnée<sup>25</sup>
- *IPCS INCHEM* (*Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations*) : site proposant de nombreux documents et monographies sur les risques chimiques<sup>26</sup>
- *Rapports BUA* (*Beratergremium für Altstoffe*) : rapports édités par la Société Allemande des Substances Chimiques.
- *Rapports RIVM* (*Rijkinstituut Voor Volksgezondheid en Milieu*) : rapports édités par l'institut Néerlandais pour la santé publique et l'environnement.

Les données rassemblées dans les bases de données ou dans certains rapports ne sont pas utilisables directement : les conditions d'essais ne sont pas nécessairement détaillées et leur validité n'est pas garantie ; d'autres part des erreurs de transcription par rapport aux sources originales peuvent exister. Il est donc nécessaire de vérifier et de valider les données trouvées en se référant à la publication d'origine. Le centre de documentation de l'INERIS est abonné à plusieurs plates-formes d'éditeurs (Science Direct, Kluwer Online, Springer Link, Pubmed Central) qui proposent l'accès direct et rapide à de nombreuses revues électroniques.

Il est par ailleurs possible de faire une recherche directement dans la littérature scientifique grâce aux moteurs de recherche tels que ISI WEB of SCIENCES.

---

<sup>23</sup> <http://epa.gov/ecotox/>

<sup>24</sup> <http://ecb.jrc.it/esis>

<sup>25</sup> <http://webdomino1.oecd.org/ehs/exichem.nsf>

<sup>26</sup> <http://www.inchem.org>

## 4. ANALYSE CRITIQUE DES DONNEES

Il est nécessaire de juger la qualité et la pertinence des données recueillies. Pour cela, il faut adopter une vision critique des outils et méthodes utilisés lors des essais.

Les protocoles standardisés élaborés par différents organismes (OCDE, US-EPA, ISO, etc.) définissent des conditions et critères de validité des essais (conditions d'élevage des organismes, réalisation des essais, traitement des résultats, etc.). Cependant, tous les résultats publiés ne sont pas réalisés selon ces protocoles (en particulier pour les publications anciennes).

Les paramètres qui permettent de juger de la qualité des essais sont listés (de manière non exhaustive) dans le tableau ci-dessous :

Liste indicative des paramètres à vérifier dans un essai d'écotoxicité :

Paramètres	Algues	Daphnies	Poissons
Acclimatation		X	X
Âges / taille / poids / origine des organismes		X	X
BPL / Normes suivies	X	X	X
Composé de référence (résultat du test)	X	X	X
Concentrations nominales / mesurées (perte de la substance au cours du test) / suivi analytique (méthode d'analyse)	X	X	X
Critère d'effet mesuré ( <i>endpoint</i> )	X	X	X
Densité de la population (nb cellules/mL pour les algues, charge pour les poissons)	X	X	X
Durée de l'essai	X	X	X
Eau douce / salée	X	X	X
Effets constatés chez les témoins	X	X	X
Incidents survenus au cours de l'essai	X	X	X
Intensité et nature de la lumière	X	X	
Méthodes statistiques appliquées	X	X	X
Mode de contamination (statique, renouvellement, continu)	X	X	X
Nombre de réplicats	X	X	X
Nourriture (source, type, etc.)		X	X
Paramètres physico-chimiques du milieu d'essai (pH, température, oxygène dissous...)	X	X	X
Phase de croissance	X		
Réponse anormale des organismes tests	X	X	X
Résultat du test	X	X	X
Solvant utilisé et présence ou non d'un contrôle solvant	X	X	X

Il est nécessaire de vérifier que les conditions d'essais sont adaptées à la substance et aux organismes. Pour valider un test, on vérifiera tout particulièrement la concentration en substance chimique dans le milieu d'essai, la durée et les effets mesurés.

### 4.1. CONCENTRATION DANS LE MILIEU D'ESSAI

L'évolution de la concentration de la substance au cours de l'essai dépend de sa solubilité dans l'eau, de son potentiel de dégradation, de sa tendance à se volatiliser et à s'adsorber. Les résultats des essais doivent être exprimés de façon à refléter l'exposition réelle des organismes à la substance. Il est ainsi important de distinguer les résultats

énoncés en terme de concentrations nominales (concentrations théoriques testées) de ceux exprimés par rapport aux concentrations mesurées (analyses chimiques des milieux à différents temps au cours de l'expérimentation). Les concentrations mesurées seront utilisées préférentiellement. Mais à défaut, les concentrations nominales pourront être considérées après évaluation des trois critères suivants :

- Propriétés de la substance : le maintien des concentrations dépend de la stabilité et du comportement de la substance dans l'eau (adsorption, volatilisation, dégradations...).
- Le renouvellement du milieu : le milieu de l'essai peut être renouvelé en continu (si le système utilisé est fiable, la concentration en substance chimique est alors maintenue constante tout au long de l'essai) ou de façon périodique (test semi-statique). Le milieu n'est parfois pas renouvelé (test statique). Pour une substance qui a tendance à ne pas rester dans l'eau (substance peu soluble, dégradable, adsorbable ou volatile), il est préférable d'utiliser un système de contamination continu.
- Le système est ouvert ou fermé : pour les substances chimiques volatiles, on préférera un milieu d'essai fermé qui permettra de limiter l'évaporation de la substance, et cela d'autant plus si le système est statique ou semi-statique.

#### **4.2. DUREE DE L'ESSAI**

La connaissance de la durée de l'essai et du cycle de vie des organismes testés permet de déterminer s'il s'agit d'une étude de toxicité aiguë ou chronique. On considère un essai comme chronique à partir de 72 heures d'exposition pour les algues, de 21 jours pour les daphnies, et de 28 jours pour les poissons.

#### **4.3. EFFETS MESURES**

Lors d'un essai d'écotoxicité, il est possible d'observer différents types d'effet : mortalité, perturbation de la croissance, de la reproduction, etc. Les effets doivent être pertinents par rapport au type d'organisme et à la durée d'exposition. Ainsi, des effets chroniques doivent être étudiés selon des critères tels que la croissance ou la reproduction, alors que l'on préférera la mortalité pour des effets aigus.

Par ailleurs, la variabilité de la réponse ne doit pas être trop importante, les témoins doivent avoir un comportement non perturbé et la méthode de calcul du paramètre statistique ( $LC_{50}$ , NOEC,...) doit être pertinente.

#### **4.4. VALIDITE DES ESSAIS**

Dans l'objectif de la détermination d'une PNEC, la validité d'un test se définit donc par rapport à la fiabilité du protocole expérimental (respect ou non des bonnes pratiques de laboratoire (BPL), suivi ou non d'une norme ou d'une ligne directrice) et par rapport à la pertinence de l'expérience (l'expérience apporte-t-elle une information exploitable pour évaluer le danger dans le milieu aquatique ?).

La validité est couramment indiquée selon les codes de Klimisch (Klimisch et al. 1997) :

- Code 1 : valide (sans restriction),
- Code 2 : valide avec restrictions,
- Code 3 : non valide,
- Code 4 : informations insuffisantes pour juger de la validité du test.

Les essais définis comme valides (codes 1 ou 2) sont pris en compte pour le calcul d'une PNEC aquatique.

Les tests pour lesquels certaines informations non cruciales sont manquantes, ou pour lesquelles des déviations mineures par rapport aux normes sont constatées, sont validées sous réserve de ces restrictions (code 2).

Les tests pour lesquels des informations cruciales sont manquantes (concentrations dans les milieux d'essai, mortalité dans le lot témoin, concentration en oxygène dissous pour les essais sur poissons, etc.), pour lesquels les conditions expérimentales ne sont pas satisfaisantes, ou qui mesurent des effets non pertinents, sont notés par le code 3 et ne pourront pas être pris en compte pour la proposition de la PNEC<sub>aqua</sub>.

Les tests pour lesquels le rapport d'essai n'est pas disponible ou n'a pas pu être vérifié sont notés par le code 4 ou par le code 3 s'il apparaît avec le peu d'informations disponibles que l'essai est invalide. Ils ne pourront également pas être pris en compte pour dériver la PNEC<sub>aqua</sub>.



## 5. SUBSTANCES ETUDIÉES ET PROPOSITIONS DE PNEC

Les propositions de PNEC<sub>aqua</sub> pour les substances traitées en 2005 sont rassemblées dans le tableau ci-dessous.

Il n'a pas été réalisé de fiche pour le Chlorure de benzyle, déjà étudié dans le cadre du programme HPVC de l'OCDE. Les propositions présentées dans le dossier de l'OCDE ont été reprises directement.

Pour certaines substances, les propositions présentées restent très incertaines en raison de l'insuffisance de données. Pour quatre substances, il n'a pas été possible de proposer de PNEC.

Substance	No UE	CAS	Proposition PNEC <sub>aqua</sub> (µg/L)	Facteur	Remarques
2-Amino-4-chlorophénol	2	95-85-2	0.91	1000	PNEC utilisant données labo de INERIS (2006)
Chlorure de benzyle (Alpha-chlorotoluène)	9	100-44-7	1	100	UNEP (2002), OECD High Production Volume Chemicals Program, Screening Information Dataset for Benzyl chloride / CAS n° 100-44-7 - vol.7 / I, UNEP Publications, 69p.  Date du rapport : 01/06/2002
Chlorure de benzylidène (Alpha, alpha-dichlorotoluène)	10	98-87-3	1.07	1000	Aucune donnée valide pour le benzylidène qui se dégrade très rapidement par hydrolyse. La PNEC proposée est basée sur les données disponibles pour le benzaldéhyde, son produit de dégradation.
Hydrate de chloral	14	302-17-0	13	1000	
Chlordane	15	57-74-9	0.0004	1000	POP. Absence de données valides pour les algues
4-Chloroaniline	19	106-47-8	1	10	
2-Chloroéthanol	22	107-07-3	19	50	
1-Chloronaphthalène	25	90-13-1	0.334	1000	Absence de données spécifiques au 1-chloronaphthalène pour les algues.
Chloronaphthalènes	26		Σ= 0.069	1000	
4-Chloro-2-nitrotoluène	31	89-59-8	4	50	
Chloronitrotoluènes (autre que 4-Chloro-2-nitrotoluène)	32		Σ= 60	50	
2-Chloro-p-toluidine	41	615-65-6	0.73	1000	PNEC utilisant données labo de INERIS (2006)
Chlorure cyanurique (2,4,6-Trichloro-1,3,5-triazine)	44	108-77-0	1250	50	Hydrolyse très rapide du chlorure cyanurique en acide cyanurique et 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine.  PNEC déterminée à partir des données pour l'acide cyanurique et le 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine.

1,2-Dibromoéthane	48	106-93-4	md		Manque de données. Données valides seulement pour les poissons.  Substance volatile et carcinogène pouvant poser problème pour l'eau destinée à être potabilisée.  Recommandation (provisoire en 2003) de l'OMS pour l'eau potable: 0.4 µg/L. Recommandation US-EPA: 0.05 µg/L
Dichloro-di-isopropyl éther	57	108-60-1	md		Absence de données valides.
Dichloronitrobenzènes	63		Σ= 0.5	50	
1,3-Dichloropropan-2-ol	66	96-23-1	208	50	
2,3-Dichloropropène	68	78-88-6	md		Manque de données: seulement une donnée poisson aiguë
Diéthylamine	72	109-89-7	20	1000	
Diméthylamine	74	124-40-3	40	50	
Epichlorohydrine	78	106-89-8	1.3	500	PNEC utilisant données labo de INERIS (2006)
2,4,5-T (dont sels de 2,4,5-T et esters de 2,4,5-T)	107	93-76-5	2 (sels)	10	Absence de données pour les plantes aquatiques.  Pas suffisamment de données disponibles pour les formes esters.
Tétrabutylétain	108	1461-25-2	md		Manque de données : seulement une donnée poisson valide
Triazophos	113	24017-47-8	0.032	10	Valeur sous réserves: calcul de la PNEC à partir de données utilisées par le RIVM mais source originale non disponible

## **6. RÉFÉRENCES**

**E.C. (2003a)** - Achievements and Obstacles in the Implementation of Council Directive 76/464/EEC on Aquatic Pollution Control of Dangerous Substances (1976-2002). Part of the project 'Transitional Provisions for Council Directive 76/464/EEC and Related Directives to the Water Framework Directive 2000/60/EC'. WRc ref: UC6079. December 2003

**E.C. (2003b)** - Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

**INERIS (2006)** - Détermination des CE50 pour trois substances chimiques sans PNEC (2-Amino-4-Chlorophenol ; 2-Chloro-p-Toluidine ; Epichlorohydrine). Rapport d'essai. 6 février 2006. INERIS-DRC-06-66026-ECOT-VVE/FGO-n° 06CR012.doc

**Klimisch, H.J., Andreae, M. and Tillmann, U. (1997)** - A Systematic Approach for Evaluating the Quality of Experimental Toxicological and Ecotoxicological Data. Regulatory Toxicology and Pharmacology 25 : 1-5.

**Lepper, P. (2002)** - Towards the Derivation of Quality Standards for Priority Substances in the Context of the Water Framework Directive. Final Report of the Study. Contract N°. B4-3040/2000/30637/MAR/E1: Identification of quality standards for priority substances in the field of water policy., Fraunhofer-Institute Molecular Biology and Applied Ecology. 04 September 2002

**Lyman, W.J. (1981)** - Handbook of chemical property estimation methods. Chapter 15, volatilization from water.

**Mackay D., Shiu W.Y., Ma K.C. (2000)** - Physical-chemical properties and environmental fate handbook. Chapman & Hall / CRCnetBase.

**Verschueren, K. (2001)** - Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.



# **ANNEXES**

## **FICHES DE DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES**



## SOMMAIRE DES ANNEXES

2-AMINO-4-CHLOROPHENOL – N°CAS : 95-85-2	27
CHLORURE DE BENZYLIDENE – N°CAS : 98-87-3 (ALPHA, ALPHA-DICHLOROTOLUENE)	31
HYDRATE DE CHLORAL – N°CAS : 302-17-0	35
CHLORDANE– N°CAS : 57-74-9	41
4-CHLOROANILINE – N°CAS : 106-47-8	65
2-CHLOROETHANOL – N°CAS : 107-07-3	79
1-CHLORONAPHTHALENE – N°CAS : 90-13-1	95
LES CHLORONAPHTHALENES	103
4-CHLORO-2-NITROTOLUENE – N°CAS : 89-59-8	115
LES CHLORONITROTOLUENES	123
2-CHLORO-P-TOLUIDINE – N° CAS 615-65-6 (2-CHLORO-4-METHYLBENZENAMINE)	131
CHLORURE CYANURIQUE – N°CAS : 108-77-0	135
1,2 DIBROMOETHANE – N° CAS 106-93-4	145
DICHLORO-DI-ISOPROPYL ETHER– N° CAS 108-60-1	150
DICHLORONITROBENZENES	151
1,3-DICHLOROPROPAN-2-OL – N°CAS : 96-23-1	155
2,3-DICHLOROPROPENE- N° CAS 78-88-6	161
DIETHYLAMINE– N°CAS : 109-89-7	165
DIMETHYLAMINE– N°CAS : 124-40-3	173
EPICHLORHYDRINE – N° CAS : 106-89-8	183
2,4,5-T – N°CAS : 93-76-5	191
TETRABUTYLETAIN – N° CAS 1461-25-2	209
TRIAZOPHOS– N°CAS : 24017-47-8	215



## 2-Amino-4-Chlorophénol – n°CAS : 95-85-2

### 1. CARACTERISTIQUES

#### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> ClNO
Etat physique :	solide brun
Poids moléculaire :	143.57 g/mol
Densité :	?
Point de fusion :	140 °C (valeur expérimentale de Debnath et al 1992 citée par MPBPWin)
Point d'ébullition :	269.52 (valeur estimée par MPBPWin)
Pression de vapeur :	0.034 Pa (valeur estimée par MPBPWin)
Solubilité dans l'eau :	2302 mg/L (valeur estimée à partir du log Kow par KOWWin) 11163 mg/L (valeur estimée par la méthode des fragments par EPIWin)
Log Kow :	1.81 (valeur expérimentale de Debnath et al 1992 citée par KOWWin) 1.24 (estimée par KOWWin) 1.459 (estimé par XLogP <sup>27</sup> )
Constante de Henry :	1.49 10 <sup>-5</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (estimé par la méthode des liaisons par HENRYWin) 2.31 10 <sup>-5</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (estimé par la méthode des groupes par HENRYWin) 2.13 10 <sup>-3</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (estimé par le rapport pression de vapeur/solubilité)
Koc :	119.9 (valeur estimée par PCKOCWin)

Très peu de données physico-chimiques expérimentales sont disponibles pour le 2-Amino-4-Chlorophénol. Les valeurs disponibles ou estimées par modèles QSARs suggèrent que cette substance est fortement soluble et très peu volatile.

#### 1.2 Persistance

Aucune donnée expérimentale n'a été trouvée pour le 2-Amino-4-Chlorophénol pour évaluer sa dégradation.

Les modèles QSARs ne prédisent pas de biodégradation facile pour cette substance.

Lors des essais réalisés à l'INERIS (INERIS, 2006), il a été constaté que la substance une fois dissoute changeait de couleur après quelques heures, ce qui suggère une dégradation partielle en d'autres composés (par photodégradation ?).

#### 1.3 Bioaccumulation

Aucune donnée expérimentale n'est disponible. Le Log Kow ne suggère pas un potentiel de bioaccumulation important pour cette substance.

---

<sup>27</sup> <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=136721>

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

Aucune donnée d'écotoxicité n'a été trouvée dans la littérature. Des essais aigus pour les algues, crustacés et poissons ont été réalisés dans le laboratoire de l'INERIS (INERIS, 2006).

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	EC50r 72h	0.91	2	INERIS, 2006
Crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC50 48h	0.97	2	INERIS, 2006
Poissons	<i>Danio rerio</i>	LC50 96h	1.67 - 2.90	2	INERIS, 2006

#### Algues :

Un test sur *Pseudokirchneriella subcapitata* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006. La ligne directrice 201 de l'OCDE a été suivie. Des flacons étanches de 150 mL ont été utilisés. Mais l'analyse chimique a révélé une perte importante en 2-Amino-4-Chlorophénol (jusqu'à plus de 89% de perte en fin d'essai). La EC50 72 h, par rapport au taux de croissance, a été déterminée à 0.91 mg/L en terme de concentrations mesurées (moyenne géométrique, en fonction du temps des concentrations analysées). Les critères de validité ont été respectés : la concentration cellulaire dans les cultures témoins a été multipliée par un facteur supérieur à 16 sur la période de 3 jours.

*Compte tenu de la perte importante en substance, la toxicité est probablement davantage imputable aux produits de dégradation que du 2-Amino-4-Chlorophénol mesuré. Ce résultat est donc considéré valide avec restriction.*

#### Microcrustacés :

Un test sur *Daphnia magna* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006. La ligne directrice 202 de l'OCDE a été suivie. Des flacons à espace de tête sertis de 20 mL ont été utilisés. Une perte de substance allant jusqu'à 38% a été mesurée après 48h. La EC50 (immobilisation) exprimée en terme de concentrations mesurées (moyenne géométrique, en fonction du temps des concentrations analysées) a été déterminée à 0.97 mg/L. La sensibilité des daphnies a été vérifiée par rapport au dichromate de potassium et est conforme aux recommandations de l'OCDE. Les critères de validité ont été respectés : la mortalité dans les témoins n'a pas excédé 10%, la concentration en oxygène dissous à la fin de l'essai est restée supérieure à 3 mg/L.

*Compte tenu de la perte importante en substance, la toxicité est probablement davantage imputable aux produits de dégradation que du 2-Amino-4-Chlorophénol mesuré. Ce résultat est donc considéré avec restriction.*

#### Poissons :

Un essai semi-statique (renouvellement du milieu à 48h) sur *Danio rerio* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006 et suivent les recommandations données par la ligne directrice 203 de l'OCDE a été suivie. Des aquariums couverts avec une plaque en verre ont été utilisés comme récipients d'essai. Des pertes de l'ordre de 45% après 48 h (avant le premier renouvellement et à la fin de l'essai) ont été mesurées. La LC50 96h exprimée en terme de concentrations mesurées (moyenne

géométrique, en fonction du temps des concentrations analysées), est comprise entre 1.67 et 2.90 mg/L (Les résultats obtenus, 0% de mortalité à 1.67 mg/L et près de 100% de mortalité à 2.90 mg/L, ne permettent pas de déterminer une LC50 précise). Les critères de validité ont été respectés : la mortalité dans les témoins n'a pas excédé 10%, la concentration en oxygène dissous à la fin de l'essai est restée supérieure à 60%.

*Compte tenu de la perte importante en substance, la toxicité est probablement davantage imputable aux produits de dégradation que du 2-Amino-4-Chlorophénol mesuré. Par ailleurs, il aurait été nécessaire de réaffiner la gamme de concentration testée pour obtenir une valeur de LC50 précise. Ce résultat est donc considéré avec restriction.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	ECr10 (72 h)	0.114	2	INERIS, 2006

INERIS, 2006 a également déterminé une donnée chronique pour les algues (cf. section 2.1).

## 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

La plus faible valeur disponible est celle obtenue en chronique pour les algues (seule valeur chronique disponible). Mais cette donnée ne sera pas utilisée pour le calcul de la PNEC (les données chroniques pour les algues ne sont pas considérées comme représentatives d'effets à long terme pour l'environnement, cf. point b de la table 16 p 101 du TGD (E.C., 2003)).

La plus faible valeur obtenu en aigu concerne également les algues, mais les daphnies semblent avoir une sensibilité équivalente. Il est donc proposé de calculer la PNEC en appliquant un facteur 1000 sur l'EC50 72h à 0.91 mg/L, soit:

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 0.91 \mu\text{g/L}$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

INERIS (2006). Détermination des CE50 pour trois substances chimiques sans PNEC (2-Amino-4-Chlorophénol ; 2-Chloro-p-Toluidine ; Epichlorohydrine). Rapport d'essai. 6 février 2006. INERIS-DRC-06-66026-ECOT-VVE/FGO-n° 06CR012.doc



# Chlorure de benzyldène – n°CAS : 98-87-3 (Alpha, alpha-dichlorotoluène)

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub>
Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	161.03 g/mol (BUA, 1991)
Densité :	1.25 mg/cm <sup>3</sup> à 20°C (HSDB, 2000)
Point de fusion :	-16.4 °C (Gefland, 1979 ; Weast, 1988-1989)
Point d'ébullition :	205.2 °C (Gefland, 1979)
Pression de vapeur :	62.66 Pa à 25°C (Perry and Green, 1984) 133.32 Pa à 35.4°C (Weast, 1988-1989)
Solubilité dans l'eau :	Insoluble (HSDB, 2000) 200 mg/L à 20°C (BUA, 1991) 250 mg/L à 30°C (Ohnishi and Tanabe, 1971)
Log Kow :	3.22* (SRC, 1988)
Constante de Henry :	40.33 Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004) 70.93* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25°C (HSDB, 2000)
Koc :	209* (SRC, 1988) 510* (HSDB, 2000) 817.2* (PCKOCWIN v.1.66, US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)

\*valeurs calculées

Les informations disponibles sur la solubilité de cette substance sont contradictoires. HSDB, qui se réfère au Handbook Merck, signale qu'elle est insoluble dans l'eau. Les autres sources suggèrent au contraire qu'elle a une solubilité avoisinant 200 mg/L. Ceci est confirmé par l'estimation donnée (195 mg/L) par WSKOWWIN.

D'après la valeur de la constante de Henry, le chlorure de benzyldène peut sinon être considéré comme une substance modérément volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière indique un temps de ½ vie de 5.3 heures (HSDB, 2000).

Par ailleurs, les valeurs de Koc calculées suggèrent une adsorption modérée du chlorure de benzyldène sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau.

### 1.2 Persistance

La dégradation du chlorure de benzyldène par hydrolyse est considérée comme la voie de dégradation la plus importante avec une demi-vie de 7.4 min à 25 °C et pH 7 (Mabey and Mill, 1978) et de 13.2 min à 20°C et pH 7 (BUA, 1991). Le chlorure de benzyldène réagit donc violemment avec l'eau, indépendamment du pH, et produit du benzaldéhyde (HSDB, 2000).

Aucune donnée expérimentale concernant la photodégradation du chlorure de benzyldène dans l'eau n'est disponible (BUA, 1991).

Le chlorure de benzylidène et plus précisément son produit d'hydrolyse, le benzaldéhyde, sont considérés comme des substances facilement biodégradables en milieu aqueux avec une dégradation (de 0.8 mg/L) en 20 heures supérieure à 70 % (BUA, 1991).

### 1.3 Bioaccumulation

Des BCF de 27.4 et de 164 ont été calculés à partir du Log Kow (SRC, 1988 ; HSDB, 2000).

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

Compte tenu de l'importance du phénomène de dégradation du chlorure de benzylidène par hydrolyse et du faible nombre de données écotoxicologiques disponibles sur cette substance, les valeurs d'essais validées par l'OCDE (UNEP, 1996) pour son produit de dégradation, le benzaldéhyde, sont également rapportées ci-dessous.

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

#### Chlorure de benzylidène

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Bactéries	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	EC <sub>50</sub> (30 min)	4.61	4	Kaiser and <i>al.</i> , 1987
	<i>Photobacterium phosphoreum</i>	EC <sub>50</sub> (30 min)	32	4	Steinhäuser and <i>al.</i> , 1986
Poissons	<i>Leuciscus idus</i>	LC <sub>0</sub> (48 h)	50	4	BUA, 1991
	<i>Leuciscus idus</i>	LC <sub>100</sub> (48 h)	100	4	BUA, 1991

#### Benzaldéhyde

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Référence
Algues	<i>Chlorococcales</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	340	UNEP, 1996
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	50	UNEP, 1996
Poissons	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	1.07	UNEP, 1996

#### Bactéries :

Les essais de Steinhäuser and *al.*, 1986 et de Kaiser and *al.*, 1987 sont cités dans le rapport BUA, 1991.

*Il n'y a aucun détail dans le rapport BUA sur les conditions expérimentales des essais. Il n'est donc pas possible de leur attribuer une validité.*

#### Poissons :

L'essai cité dans le rapport BUA, 1991 sur *Leuciscus idus* indique une LC<sub>0</sub> (48 h) = 50 mg/L et une LC<sub>100</sub> (48 h) = 100 mg/L.

*Compte tenu de l'impossibilité de vérifier ces données, les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

### Chlorure de benzylidène

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Bactérie	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	EC <sub>0</sub> (24 h)	100	4	BUA, 1991

### Benzaldéhyde

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Référence
Algue	<i>Microcystis aeruginosa</i>	NOEC (8 j.)	20	UNEP, 1996

L'essai cité dans le rapport BUA, 1991 sur *Pseudomonas fluorescens* indique une EC<sub>0</sub> (24 h) = 100 mg/L.

*Compte tenu de l'impossibilité de consulter la publication originale, le résultat obtenu n'est donné qu'à titre indicatif*

## 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

Aucune des données aigus et chroniques sur le chlorure de benzylidène n'ont pu être validés. Il n'est pas possible de déterminer directement une PNEC pour cette substance en s'appuyant sur la méthodologie habituellement recommandée (E.C., 2003).

Néanmoins, le chlorure de benzylidène s'hydrolysant très rapidement en benzaldéhyde, il est proposé de baser la PNEC sur les données disponibles pour le benzaldéhyde. Pour le benzaldéhyde, on dispose de données aiguës pour trois niveaux trophiques différents et d'une donnée chronique pour les algues. Ces données sont issues du rapport finalisés d'évaluation des effets réalisé dans le cadre du programme HPV de l'OCDE (UNEP, 1996). La validation de ces données a fait l'objet d'un consensus international et elles seront donc utilisées pour la détermination de la PNEC.

La plus faible valeur a été obtenue sur *Lepomis macrochirus* avec une LC<sub>50</sub> sur 96 heures égale à 1.07 mg/L. La PNEC sera calculée en appliquant un facteur 1000 sur cette valeur, soit: 1.07/1000 mg/L:

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 1.07 \mu\text{g/L}$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

BUA (1991). Benzal chloride. BUA Report 71. GDCh-Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance, 71.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

- Gefland, S. (1979). Benzylchloride, benzalchloride and benzotrichloride. Kirk-Othmer Encycl. Chem. Tech. 3 rd ed. 5: 828-838.
- HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.
- Kaiser, K. L. E., *al.* (1987). QSAR Environ. Toxicol., Proc. Int. workshop, 2nd Meeting Date 1986. K. L. E. Kaiser, Reidel, Dordrecht, Neth.: 153-186.
- Mabey, W., T. Mill (1978). "Critical review of hydrolysis of organic compounds in water under environmental conditions." J. Phys. Chem. Ref. Data 7: 383-415.
- Ohnishi, R., K. Tanabe (1971). "A new method of solubility determination of hydrolyzing solute-solubility of benzyl chloride in water." Bull. Chem. Soc. Japan 41: 2647-2649.
- Perry, R. H., D. Green (1984). Perry's chemical handbook. Physical and chemical data. New York, McGraw Hill.
- SRC (1988). Syracuse Research Corporation calculated values.
- Steinhäuser, K. G., *al.* (1986). Von Wasser 67: 147-154.
- UNEP (1996). OECD High Production Volume Chemicals Program, Screening Information Dataset for Benzaldehyde / CAS n° 100-52-7 - vol.3 / I. UNEP Publications.
- US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,.
- Weast, R. C. (1988-1989). CRC Handbook of chemistry and physics. Florida, Boca Raton.

# Hydrate de Chloral – n°CAS : 302-17-0

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	$C_2H_3Cl_3O_2$
Etat physique :	cristaux transparents (IPCS-INCHEM, 1996)
Poids moléculaire :	165.4 g/mol (HSDB, 2000)
Densité :	1.9081 g/cm <sup>3</sup> à 20°C (Lide, 1998-1999)
Point de fusion :	57°C (Lide, 1998-1999)
Point d'ébullition :	96°C (Lide, 1998-1999) 98°C (Verschueren, 2001)
Pression de vapeur :	4666.28 Pa à 20°C (Verschueren, 2001) 1999.83 Pa à 25°C (Perry et Green, 1984)
Solubilité dans l'eau :	9.31×10 <sup>6</sup> mg/L à 25°C (Yalkowsky et Dannenfelser, 1992)
Log Kow :	0.99 (Hansch <i>et al.</i> , 1995)
Constante de Henry :	0.00058* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (Meylan et Howard, 1991)
Koc :	1* (PCKOCWIN v.1.66 in US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)

\*valeurs estimées

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, l'hydrate de chloral peut être considéré comme une substance très soluble et faiblement volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de 1/2 vie de 5495 jours et de 59950 jours respectivement (US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004).

### 1.2 Persistance

Aucune donnée sur la dégradation de l'hydrate de chloral par hydrolyse, photolyse et biodégradation en milieu aquatique n'a été trouvée dans la littérature.

### 1.3 Bioaccumulation

Un BCF de 3 a été calculé à partir du Log Kow = 0.99 (BCFWIN v.2.15 in US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004). Cette valeur suggère que l'hydrate de chloral ne semble avoir de potentiel de bioaccumulation dans les organismes aquatiques.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	500	2	Bringmann et Meinck, 1964
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	630	2	Bringmann et Kuhn, 1982
Poissons	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1720	2	Juhnke et Lüdemann, 1978

#### Micro-crustacés :

Bringmann et Meinck, 1964 ont déterminé une EC<sub>50</sub> (48 h) = 500 mg/L sur *Daphnia magna* mais il n'a pas été possible de vérifier ce résultat dans la publication originale.

*Il n'a pas été possible de vérifier ce résultat. Cependant la substance ne posant pas de difficulté particulière pour la réalisation des tests, il sera tenu compte de cette donnée.*

Bringmann et Kuhn, 1982 ont réalisé un essai sur une population de *Daphnia magna* âgées de 24h. Les conditions étaient les suivantes : température de 20°C, pH de 8 ± 0.2, dureté de 250 mg CaCO<sub>3</sub>/L, durée d'exposition de 24h. La concentration en oxygène dissous a été supérieure à 2 mg/L ce qui est en accord avec la norme ISO. Les concentrations testées ont été obtenues par dilutions successives (2 en 2) à partir d'une solution mère. Les récipients d'essai n'étaient pas fermés. Deux réplicats ont été réalisés par concentration d'essai. Le critère d'effet mesuré était l'immobilisation. Une EC<sub>50</sub> (24 h) = 630 (556 – 714) mg/L a été déterminée ainsi qu'une EC<sub>0</sub> (24 h) = 335 mg/L et une EC<sub>100</sub> (24 h) = 1000 mg/L.

*Certaines informations, comme la mortalité obtenue dans les témoins et les valeurs des concentrations testées, sont manquantes. Par ailleurs, la ligne directrice 202 de l'OCDE recommande de couvrir les récipients d'essai et de tester chaque concentration d'essai en 4 exemplaires. Compte-tenu de ces remarques et de la courte durée d'exposition, l'essai est jugé valide avec restrictions.*

#### Poissons :

Juhnke et Lüdemann, 1978 ont déterminé une LC<sub>50</sub> (48 h) = 1720 mg/L sur *Leuciscus idus melanotus*.

*Le protocole expérimental de cet essai apparaît peu détaillé et il n'a pas été possible de vérifier ce résultat. Cependant la substance ne posant pas de difficulté particulière pour la réalisation des tests, il sera tenu compte de cette donnée. Il faut toutefois noter que la durée du test (48 h) est insuffisante par rapport à celle généralement recommandée pour les poissons (96 h).*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Micro-organismes	<i>Pseudomonas putida</i>	TGK (16 h)	1.6	4	Bringmann et Kühn, 1980b
	<i>Uronema parduzji</i>	TGK (20 h)	86	4	Bringmann et Kühn, 1980a
Algues	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	EC <sub>3</sub> (8 j.)	2.8	3	Bringmann et Kühn, 1978b
	<i>Chilomonas paramecium</i>	TGK (48 h)	13	2	Bringmann <i>et al.</i> , 1980
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	EC <sub>3</sub> (8 j.)	78	3	Bringmann et Kühn, 1978b
	<i>Entosiphon sulcatum</i>	TGK (72 h)	79	2	Bringmann et Kühn, 1980b

### Micro-organismes :

Les essais sur micro-organismes n'étant pas pris en compte pour le calcul de la PNEC<sub>aqua</sub>, la validité des essais de Bringmann et Kühn, 1980a et de Bringmann et Kühn, 1980b n'a pas été étudiée. Les résultats (TGK : assimilable à une NOEC) ne sont donc donnés qu'à titre indicatif.

### Algues :

Bringmann et Kühn, 1978b ont testé la toxicité de l'hydrate de chloral sur l'algue verte *Scenedesmus quadricauda* et sur l'algue bleue *Microcystis aeruginosa*. Les conclusions de ces essais sont repris dans Bringmann et Kühn, 1978a ; Bringmann et Kühn, 1979 et Bringmann et Kühn, 1980b. Ils ont été réalisés dans des conditions (éclairage constant, 27°C, pH 7) statiques et fermées. Il n'y a pas eu de suivi analytique. L'effet étudié était la croissance de la population. Des groupes témoins ont été réalisés. La biomasse algale a été mesurée par spectrométrie à 578 nm. La durée de l'essai était de 8 jours. A la fin de l'essai, la concentration entraînant une inhibition du taux de croissance de 3 % (EC<sub>3</sub>), qui peut-être assimilée à une NOEC, a été déterminée à 2.8 mg/L pour *Scenedesmus quadricauda* et à 78 mg/L pour *Microcystis aeruginosa*.

*La durée d'exposition est importante et il n'est pas assuré qu'après 8 jours les algues se trouvaient encore en phase exponentielle de croissance telle que le définit la ligne directrice 201 de l'OCDE (multiplication cellulaire par un facteur 16 sur une durée de 3 jours). Il ne sera pas tenu compte de ces résultats.*

Bringmann *et al.*, 1980 ont mené un essai sur *Chilomonas paramecium* (cryptophytes) dans des conditions (température : 20°C, pH : 6.9) statiques et fermées. Il n'y a pas eu de suivi analytique. L'effet étudié était la croissance de la population. Bringmann *et al.* ont défini un seuil de toxicité (TGK) qui représente une inhibition du taux de croissance de 3 à 5%. Après 48 h, celui-ci a été déterminé = 13 mg/L.

*Le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant. Cet essai est donc considéré valide avec restrictions. Il faut toutefois noter que la durée du test (48 h) est insuffisante par rapport à celle généralement recommandée pour les algues (72 h).*

Bringmann et Kühn, 1980b ont mené un essai sur *Entosiphon sulcatum* (euglénophytes) dans des conditions (température : 25°C, pH : 6.8 – 6.9) statiques et fermées. Il n'y a pas eu de suivi analytique. L'effet étudié était la croissance de la population. Bringmann & Kühn ont défini un seuil de toxicité (TGK) qui représente une inhibition du taux de croissance de 3 à 5%. Après 72 h, celui-ci a été déterminé = 79 mg/L.

Le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant. Cet essai est donc considéré valide avec restrictions.

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

On dispose d'essais aigus chroniques valides seulement pour les algues, et c'est pour les algues que l'on a la donnée la plus faible (NOEC 48 h obtenue sur *Chilomonas paramecium* à 13 mg/L). On ne dispose pas de EC50 pour les algues, mais la durée du test (48 h) pour *Chilomonas paramecium* étant inférieure à celle généralement recommandée pour les algues, cette donnée sera assimilée à un résultat aigu. Il est proposé de calculer la PNEC en appliquant un facteur de sécurité de 1000 sur cette valeur, soit :  $PNEC_{\text{aqua}} = 13/1000 \text{ mg/L}$  :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 13 \mu\text{/L}$$

### 4. BIBLIOGRAPHIE

Bringmann, G. and R. Kühn (1978a). "Grenzwerte der Schädwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) im Zellvermehrungshemmtest." Vom Wasser 50: 45-60.

Bringmann, G. and R. Kühn (1978b). "Testing of substances for their toxicity threshold: Model organisms *Microcystis (Diplocystis) aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*." Mitt. Internat. Verein. Limnol. 21: 275-284.

Bringmann, G. and R. Kühn (1979). "Vergleich der toxischen Grenzkonzentrationen wassergefährdender Stoffe gegen Bakterien, Algen und Protozoen im Zellvermehrungshemmtest." Haustechn., Bauphysik - Umwelttechnik 100: 249-252.

Bringmann, G. and R. Kühn (1980a). "Bestimmung der biologischen Schädwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen. II. Bakterienfressende Ciliaten." Zeitschrift Wasser-Abwasser Forschung 13(1): 26-31.

Bringmann, G. and R. Kühn (1980b). "Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae and protozoa in the cell multiplication inhibition test." Water Research 14(3): 231-241.

Bringmann, G., R. Kühn and A. Winter (1980). "Bestimmung der biologischen Schädwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen. III. Saprozoische Flagellaten." Zeitschrift Wasser-Abwasser Forschung 13(5): 170-173.

Bringmann, G. and F. Meinck (1964). "Wassertoxikologische Beurteilung von Industrieabwässern." Gesundheits-Ingenieur 85: 229-260.

Bringmann, V. G. and R. Kuhn (1982). "Ergebnisse der Schädwirkung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna* in einem weiterentwickelten standardisierten Testverfahren (Results of toxic action of water pollutants on *Daphnia magna* Straus tested by an improved standardized procedure)." Z. Wasser Abwasser Forsch 15(1): 1-6.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

Hansch, C., A. Leo and D. Hoekman (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and steric constants. Washington, DC., American Chemical Society.

HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.

IPCS-INCHEM (1996). Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations, International Programme on Chemical Safety. 2004.

Juhnke, I. and D. Lüdemann (1978). "Results of the investigation of 200 Chemical Compounds for Acute Fish Toxicity with the Golden Orfe Test. (Ergebnisse der Untersuchung von 200 chemischen verbindung auf akut: Fischtotoxicität mit dem Goldorfentest)." Zeitschrift Wasser-Abwasser Forsch. 11(5): 161-164.

Lide, D. R. (1998-1999). CRC-Handbook of chemistry and physics. Boca Raton, FL, CRC-press Inc.

Meylan, W. M. and P. H. Howard (1991). "Bond contribution method for estimating Henry's Law Constants." Environmental Toxicology and Chemistry 10: 1283-1293.

Perry, R. H. and D. Green (1984). Perry's Chemical Engineers's Handbook. Physical and Chemical Data. New York, NY, McGraw-Hill.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,

Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.

Yalkowsky, S. H. and R. M. Dannenfelser (1992). The Aquasol Database of Aqueous Solubility, College of Pharmacy, University of Arizona-Tucson, AZ.



# Chlordane– n°CAS : 57-74-9

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Type :	insecticide
Formule brute :	$C_{10}H_6Cl_8$
Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	409.8 g/mol (HSDB, 2000)
Densité :	1.59 – 1.63 g/cm <sup>3</sup> à 25 °C (O'Neil, 2001)
Point de fusion :	104 – 107 °C (Worthing and Walker, 1983)
Point d'ébullition :	175 °C à 266.6 Pa (Hawley, 1981)
Pression de vapeur :	0.0013 Pa à 25 °C (Tomlin, 1994)
Solubilité dans l'eau :	0.056 mg/L à 25°C (Sanborn <i>et al.</i> , 1976)
Log Kow :	2.78 – 6.21 (MacKay <i>et al.</i> , 2000) 6.16 (HSDB, 2000))
Constante de Henry :	4.92 Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25°C (Warner <i>et al.</i> , 1987)
Koc :	1220* (SRC, 1988) 20000 - 76000* (HSDB, 2000)

\* valeurs estimées

Le chlordane était un pesticide organochloré de première génération. Il a été classifié comme POP (*Persistent Organic Pollutant*)<sup>28</sup> par l'UNEP (*United Nations Environment Programme*). Le chlordane est par ailleurs suspecté d'induire des effets endocriniens. Sa production, mise sur le marché ou utilisations sont maintenant complètement prohibées dans l'Union Européenne par le Règlement 850/2004<sup>29</sup>.

Les informations disponibles sur la solubilité du chlordane sont contradictoires. Des valeurs allant de 0.002 à 1.85 mg/L sont par exemple citées dans MacKay *et al.*, 2000. La valeur de 0.056 mg/L a été retenue, car elle est la plus fréquemment citée et proche de la majorité des autres valeurs données par la littérature. Quoiqu'il en soit, le chlordane est relativement insoluble dans l'eau et modérément volatile, ce qui explique sa classification en tant que POP. Une étude de la volatilisation de la substance basée sur la constante de Henry du chlordane, dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de 1/2 vie de 42 heures et de 19 jours respectivement (HSDB, 2000). Cependant, en considérant le phénomène d'adsorption, le temps de 1/2 vie passe à 103 ans dans un modèle d'étang (HSDB, 2000). En effet, les valeurs estimées du Koc supposent une forte adsorption du chlordane sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau.

Ainsi, lors de la préparation des solutions d'essai le recours à un solvant peut s'avérer nécessaire. Par ailleurs, les résultats d'essais écotoxicologiques établis à partir de

---

<sup>28</sup> Les POP sont des substances persistantes (aux dégradations biotiques et abiotiques), fortement liposolubles (et donc fortement bioaccumulables), et volatiles (et peuvent donc être transportées sur de longues distances et être retrouvée de façon ubiquitaire dans l'environnement)

<sup>29</sup> Règlement (CE) n°850/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 concernant les polluants organiques persistants et modifiant la directive 79/117/CEE

concentrations mesurées seront privilégiés, d'autant plus si le système est statique ou semi-statique.

## 1.2 Persistance

Le chlordane n'est pas susceptible d'être dégradé par hydrolyse (HSDB, 2000, Ellington *et al.*, 1988).

Le chlordane est stable sous des conditions de lumière naturelle (IPCS, 1998) et n'est pas susceptible d'être dégradé par photolyse directe. Cependant, il est indiqué que la présence d'autres substances comme le benzophénone ou l'acétone augmenterait son taux de photodégradation (HSDB, 2000).

Une étude de Tabak *et al.*, 1981 montre une absence de biodégradation du chlordane après 28 jours d'incubation. En conditions aérobies dans le sol, des temps de demi-vie de biodégradation allant de 0.4 à 3.3 ans ont été estimés (HSDB, 2000).

## 1.3 Bioaccumulation

HSDB, 2000 rapporte des valeurs de BCF allant de 3311 à 19953 mesurées chez les poissons :

- un BCF de 38019 a été mesuré chez *Pimephales promelas* après 32 jours d'exposition (Veith *et al.*, 1979)
- des BCF de 6309 et de 19953 ont été déterminés chez *Cyprinodon variegatus* pour des juvéniles et des adultes après 28 et 189 jours d'exposition respectivement (Parrish and *al.*, 1978).

Chez les algues vertes, un BCF de 10232 a été mesuré au bout de 24 h d'exposition au chlordane. Ces différentes valeurs de BCF suggèrent un fort potentiel de bioconcentration du chlordane dans les organismes aquatiques (HSDB, 2000).

# 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

## 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Chlamydomonas sp.</i> <i>Chlorella ellipsoidea</i> <i>Euglena elastica</i>	EC <sub>50</sub> (72 h) photosynthèse	100	3	Clegg and Koevenig, 1974
	<i>Chlamydomonas sp.</i> <i>Chlorella ellipsoidea</i> <i>Euglena elastica</i>	EC <sub>50</sub> (72 h) croissance	> 100	3	Clegg and Koevenig, 1974
Platyhelminthes	<i>Dugesia tigrina</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.32	3	See <i>et al.</i> , 1974
Annélides	<i>Nereis virens</i> *	LC <sub>50</sub> (12 j.)	0.19	3	McLeese <i>et al.</i> , 1982
	<i>Nereis virens</i> *	LC <sub>50</sub> (12 j.)	0.22	3	McLeese <i>et al.</i> , 1982
Micro-crustacés	<i>Panaeus duorarum</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0004	2	Parrish <i>et al.</i> , 1976
	<i>Palaemonetes kadiakensis</i>	LC <sub>50</sub> (5 j.)	0.0025	2	Sanders, 1972

	<i>Palaemonetes kadiakensis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.004	2	Sanders, 1972
	<i>Palaemonetes pugio*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0048	2	Parrish <i>et al.</i> , 1976
	<i>Palaemonetes kadiakensis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.01	3	Sanders, 1972
	<i>Palaemon macrodactylus*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.011	4	Schoettger, 1970
	<i>Simocephalus serrulatus</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.02	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	0.024	4	Office of pesticide programs, 2000
	<i>Daphnia pulex</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.024	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Gammarus lacustris</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.026	3	Sanders, 1969
	<i>Daphnia pulex</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.029	4	Sanders and Cope, 1966
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Daphnia magna</i>	L(E)C <sub>50</sub>	0.035	4	US-EPA, 1980
	<i>Gammarus fasciatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.04	3	Sanders, 1972
	<i>Gammarus fasciatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.04	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Hyalella azteca</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.0611	3	Moore <i>et al.</i> , 1998
	<i>Penaeus vannamei*</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.0632	3	Galindo <i>et al.</i> , 1996
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.097	3	Randall <i>et al.</i> , 1979
	<i>Hyalella azteca</i>	EC <sub>50</sub> (168 h)	0.0971	4	Cardwell and <i>al.</i> , 1977
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.0984	3	Moore <i>et al.</i> , 1998
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.156	3	Randall <i>et al.</i> , 1979
<b>Crustacés</b>	<i>Cancer magister*</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	0.0013	4	Caldwell, 1977
	<i>Cancer magister*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.01	4	Caldwell, 1977
	<i>Orconectes nais</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.05	4	Johnson and Finley, 1980
<b>Mollusques</b>	<i>Crassostrea virginica*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0062	2	Parrish <i>et al.</i> , 1976
	<i>Crassostrea virginica*</i>	LOEC (24 h)	0.01	4	Butler <i>et al.</i> , 1960
	<i>Anodonta imbecillis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.88	4	Keller, 1993
<b>Insectes</b>	<i>Notonecta sp.</i>	LC <sub>50</sub> (168 h)	0.00079	4	Konar, 1968
	<i>Chironomus tentans</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.0058	3	Moore <i>et al.</i> , 1998
	<i>Pteronarcys californicus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.015	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Pteronarcys californicus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.015	3	Sanders and Cope, 1968
	<i>Pteronarcys californicus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.055	4	Cope, 1965
	<i>Anopheles quadrimaculatus</i>	LC <sub>60</sub> (48 h)	0.1	3	LaBrecque <i>et al.</i> , 1956

Poissons	<i>Chana punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (168 h)	0.00051	4	Konar, 1968
	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0008	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0029	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Cyprinus carpio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0029	3	Rao <i>et al.</i> , 1975
	<i>Micropterus salmoides</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.003	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0037	4	Schoettger, 1970
	<i>Lagodon rhomboides</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0064	2	Parrish <i>et al.</i> , 1976
	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0067	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0078	4	Cope, 1965
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0082	3	Mehrle <i>et al.</i> , 1974
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.009	4	Office of pesticide programs, 2000
	<i>Perca flavescens</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0096	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Salmo trutta</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0111	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Morone saxatilis</i> *	LC <sub>50</sub>	0.0118	4	Korn and Earnest, 1974
	<i>Catla catla</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.012	3	Bansal <i>et al.</i> , 1980
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0125	2	Parrish and <i>al.</i> , 1978
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0139	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Heteropneustes fossilis</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	0.014	4	Rai and Mandal, 1993
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.014	3	Johnson and Finley, 1980
	<i>Cirrhina mrigala</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.015	3	Bansal <i>et al.</i> , 1980
	<i>Cyprinus carpio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.016	3	Bansal <i>et al.</i> , 1980
	<i>Catostomus commersoni</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.017	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0191	4	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Labeo rohita</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.02	3	Bansal <i>et al.</i> , 1980
<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.0214	3	Moore <i>et al.</i> , 1998	
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.022	3	Henderson <i>et al.</i> , 1960	
<i>Oncorhynchus clarki</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.023	4	Mayer and Ellersieck, 1986	
<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0245	2	Parrish <i>et al.</i> , 1976	
<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0248	3	Johnson and Finley, 1980	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0249	3	Johnson and Finley, 1980	

<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	LC <sub>50</sub> (72 h)	0.025	4	Ravikumar and Gupta, 1988
<i>Oncorhynchus clarki</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.027	3	Johnson and Finley, 1980
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0293	3	Johnson and Finley, 1980
<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub>	0.037	4	Cardwell and <i>al.</i> , 1977
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.04	4	Cope, 1965
<i>Cyprinus carpio communis</i>	LC <sub>50</sub> (72 h)	0.04	4	Ravikumar and Gupta, 1988
<i>Gambusia affinis</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.041	3	Culley and Ferguson, 1969
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.041	3	Randall <i>et al.</i> , 1979
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.042	3	Johnson and Finley, 1980
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.044	3	Katz, 1961
<i>Salvelinus fontinalis</i>	LC <sub>50</sub>	0.045	4	Cardwell and <i>al.</i> , 1977
<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.0458	3	Johnson and Finley, 1980
<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.052	3	Henderson <i>et al.</i> , 1960
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.056	4	Office of pesticide programs, 2000
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.056	3	Katz, 1961
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.057	3	Katz, 1961
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.057	3	Johnson and Finley, 1980
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub>	0.059	4	Cardwell and <i>al.</i> , 1977
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.062	3	Randall <i>et al.</i> , 1979
<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.069	3	Henderson <i>et al.</i> , 1960
<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub>	0.077	4	Macek and <i>al.</i> , 1969
<i>Carassius auratus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.082	3	Henderson <i>et al.</i> , 1960
<i>Gasterosteus aculeatus*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.09	3	Katz, 1961
<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.115	3	Johnson and Finley, 1980
<i>Gasterosteus aculeatus*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.16	3	Katz, 1961
<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.341	4	Gupta <i>et al.</i> , 1984
<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.19	3	Henderson <i>et al.</i> , 1960
<i>Heteropneustes fossilis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.275	4	Mishra and Srivastava, 1984,
<i>Heteropneustes fossilis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.42	3	Verma <i>et al.</i> , 1982
<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.5	4	Clemens and Sneed, 1959

	<i>Cyprinus carpio</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1.16	4	Ludemann and Neumann, 1960
<b>Amphibiens</b>	<i>Bufo bufo</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	2	4	IPCS, 1984
	<i>Bufo vulgaris formosus</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	3.5	4	Nishiuchi, 1980

\* espèces marines

#### Algues :

Clegg and Koevenig, 1974 ont testé la toxicité d'une formulation de chlordane à 60% de pureté sur l'activité photosynthétique de *Chlamydomonas sp.*, *Chlorella ellipsoidea* et *Euglena elastica*. Le critère d'effet mesuré était la synthèse d'ATP. Les cultures algales ont été exposées à 100 mg/L de chlordane dans 500 mL de milieu. Les essais ont été réalisés en 5 exemplaires. Des groupes témoins de l'eau de dilution ont également été réalisés. L'acétone a été utilisée comme solvant. 72 heures après l'inoculation, 3 échantillons de 5 mL ont été prélevés dans chaque culture et la densité cellulaire a été déterminée par mesure de la densité optique à 650 nm. Des échantillons de 10 mL ont été utilisés pour extraire l'ATP et le mesurer. Les résultats sur les mesures d'ATP sont représentés graphiquement et les concentrations cellulaires moyennes obtenues au bout de 72 h d'exposition pour les trois espèces et les groupes témoins sont indiquées. Pour chaque espèce, une diminution d'environ 50 % d'ATP a été mesurée au bout de 72 heures d'exposition à 100 mg/L de chlordane. Une diminution des densités cellulaires de 14 % et de 2 % par rapport au groupe témoin a été mesurée chez *Chlorella ellipsoidea* et *Chlamydomonas sp.* respectivement ; tandis que la concentration cellulaire de *Euglena elastica* a augmenté de 63 %.

*Ces essais sont peu renseignés. Une seule concentration a été testée et elle est bien supérieure à limite de solubilité. Il n'est pas précisé si la formulation et l'ajout d'un solvant ont permis d'augmenter la solubilité de la substance. Il n'y a pas eu de suivi analytique. La concentration cellulaire initiale n'est pas précisée. La synthèse d'ATP n'est pas considéré comme un critère d'effet pertinent pour la détermination d'une PNECaqua. L'augmentation de la densité cellulaire pour Euglena elastica en présence de chlordane reste inexpliquée. Cet essai ne sera donc pas retenu.*

#### Platyhelminthes :

L'essai de See *et al.*, 1974 sur *Dugesia tigrina* a été réalisé à une température de 20 °C dans l'obscurité. La dureté de l'eau était de 35 mg/L, l'alcalinité de 50 mg/L et le pH s'est échelonné de 7.3 à 7.9. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.32 mg/L a été déterminée.

*Trop peu d'informations sont fournies pour valider cet essai. En particulier, il n'est pas possible de s'assurer que cette LC50 correspond à une concentration de substance effectivement dissoute.*

#### Annélides :

McLeese *et al.*, 1982 ont réalisé deux types d'essai sur *Nereis virens* : l'un en milieu purement aquatique et l'autre intégrant des sédiments. Pour le premier test, 5 individus de 2.5 à 10 g ont été utilisés dans 2 L d'eau de mer. Ils étaient transférés chaque 48 h dans des récipients contenant les solutions d'essai fraîchement préparées. Dans le deuxième test, 5 individus ont été utilisés dans des récipients de 2 L contenant 500 g de sédiment sableux (3 cm d'épaisseur) et 250 mL d'eau de mer. Pour ce deuxième test, ils étaient transférés dans des nouveaux récipients d'essai chaque 96 h. Ces deux test ont duré 12 jours. Le milieu était aéré et la température a été maintenue entre 9 et 10 °C. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée mais des anomalies comportementales (réduction de la bioturbation) ont été observées pour les concentrations testées les plus élevées. Une LC<sub>50</sub> (12 j.) = 0.22 mg/L a été déterminée pour le premier test et une LC<sub>50</sub> (12 j.) = 0.19 mg/L a été déterminée pour le compartiment « eau superficielle » du deuxième test.

Les informations sont insuffisantes pour pouvoir valider ces essais. Il n'est pas précisé si les concentrations testées sont exprimées en terme de concentrations véritablement dissoutes (Les LC50 sont au dessus du seuil de solubilité et il n'est pas mentionné si un solvant a été utilisé). Il n'y a pas de différence importante entre les résultats pour les essais réalisés avec ou sans sédiments alors que l'on aurait pu s'attendre à ce que chlordane s'adsorbe en grande partie sur les sédiments ; cela pourrait s'expliquer si les LC50 sont exprimées en terme de chlordane total.

#### Micro-crustacés :

Les essais présentés dans Cardwell and *al.*, 1977, Office of pesticide programs, 2000, Sanders and Cope, 1966; Schoettger, 1970, Schoettger, 1970 et US-EPA, 1980 n'ont pu être consultés dans les publications originales.

Il n'est donc pas possible de juger de la validité des essais et les résultats ne sont donnés qu'à titre indicatif.

L'essai de Galindo *et al.*, 1996 a été réalisé sur une espèce marine, *Penaeus vannamei*, en conditions statiques. Des juvéniles de 6 à 7 cm de long, provenant d'une zone côtière à 33 ‰ de salinité, ont été acclimatés en laboratoire à une eau de mer de salinité de 20 ‰ pendant au moins 4 jours (diminution de 3‰ par jour). Durant cette période d'acclimatation, la température était de 28 – 29°C, le milieu était continuellement aéré et les organismes étaient nourris quotidiennement. Suivant cette période, des groupes de 10 individus (2.44 g en moyenne) ont été utilisés pour chaque concentration d'essai, dans des aquariums de 10 L. Aucune alimentation n'a été administrée aux organismes durant l'essai. L'acétone a été utilisée comme solvant. 5 concentrations (0.021, 0.0315, 0.0420, 0.084, 0.126 mg/L) et un contrôle solvant ont été testés en 3 exemplaires chacun. Toutes les 4 heures, la mortalité a été enregistrée et les anomalies comportementales annotées. Les concentrations en oxygène dissous, NH<sup>4+</sup> et NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ont été mesurées dans chaque aquarium. Au bout de 48 heures, aucune mortalité n'a été enregistrée dans les groupes témoins. Une LC<sub>50</sub> (48 h) = 0.0632 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

Les résultats sont exprimés en terme de concentrations nominales. Mais il n'est pas mentionné si des mesures particulières ont été prises pour limiter les pertes par volatilisation. La concentration de solvant utilisée n'est pas précisée. Il ne sera pas tenu compte de ce résultat.

Les résultats cités dans Johnson and Finley, 1980 sur la toxicité aiguë du chlordane sont également repris dans Mayer and Ellersieck, 1986. Les essais ont été réalisés en milieu statique (eau reconstituée déionisée) non aéré sur *Simocephalus serrulatus* ( $\leq 24$  h), *Daphnia pulex* ( $\leq 24$  h) et *Gammarus fasciatus* (mature). La température du milieu était de 15  $\pm$  1°C pour les essais sur *Simocephalus serrulatus* et *Daphnia pulex* et de 21  $\pm$  1°C pour le dernier essai. L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration n'excédant pas 0.5 mL/L. Le pH a été maintenu de 7.2 à 7.5, l'alcalinité de 30 à 35 mg/L et la dureté de l'eau de 40 à 50 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Les organismes ont été acclimatés à l'eau de dilution pendant 4 à 6 heures. Aucune alimentation n'a été fournie durant la période d'acclimatation et le test. Un minimum de 10 organismes par concentration d'essai a été testé sur une période de 48 h ou sur 96 h. Au moins 6 concentrations d'essai en duplicata ont été utilisées. Le critère d'effet mesuré sur *Simocephalus serrulatus* et *Daphnia pulex* était l'immobilité et celui mesuré sur *Gammarus fasciatus* était la mortalité. Ces deux critères ont été mesurés toutes les 24 heures. Les L(E)C<sub>50</sub> obtenues sont :

- pour *Simocephalus serrulatus* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 0.02 (0.012 – 0.032) mg/L
- pour *Daphnia pulex* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 0.024 (0.02 – 0.028) mg/L
- pour *Gammarus fasciatus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.04 (0.021 – 0.06) mg/L

Un solvant a été utilisée à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Il n'est pas précisé si des groupes témoins par rapport à ce solvant et par rapport au milieu seul ont été réalisés. Les valeurs des concentrations testées, la

teneur en oxygène dissous ne sont pas données. La période d'acclimatation paraît courte par rapport à celle recommandée par la ligne directrice 202 de l'OCDE (min de 48 heures). Il n'est pas précisé si des mesures particulières ont été prises pour limiter la volatilisation de la substance. Il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations d'essai. Les publications originales ne sont pas citées mais il semblerait que le résultat cité pour *Gammarus fasciatus* soit celui de Sanders, 1972 réalisé en milieu statique (décrit plus bas). Il ne sera pas tenu compte de ces résultats.

Les essais de Moore *et al.*, 1998 sur *Daphnia magna* (< 24 h) et sur *Hyaella azteca* (2 à 3 semaines) ont été menés à  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  dans des conditions de milieu statiques. Une photopériode de 16 heures a été appliquée. Les solutions d'essai ont été préparées à partir d'une solution aqueuse de chlordane (insecticide contenant 44 % de composé actif). Cinq concentrations ont été testées en 3 exemplaires, leurs valeurs nominales étaient : 0.001, 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1 mg/L. Dix daphnies ont été utilisées par réplicat dans des récipients de 250 ml contenant 200 ml de milieu. Un contrôle témoin a également été réalisé. Aucune alimentation n'a été fournie aux daphnies durant le test. Les paramètres physico-chimiques du milieu d'essai ont été mesurés conformément à « APHA<sup>30</sup> » (1992). L'alcalinité et la dureté de l'eau de dilution allaient de 60 à 80 mg/L en  $\text{CaCO}_3$ . Un suivi analytique des concentrations d'essai a été réalisé : sur 48 h la perte de produit a été mesurée à 33.6 %. Les  $\text{LC}_{50}$  ont été déterminées à partir des concentrations nominales. Une  $\text{LC}_{50}$  (48 h) = 0.0984 mg/L et une  $\text{LC}_{50}$  (48 h) = 0.0611 mg/L ont été déterminées pour *Daphnia magna* et *Hyaella azteca* respectivement.

*Certaines informations importantes ne sont pas précisées : la mortalité obtenue dans les groupes témoins et la concentration en oxygène dissous. Par ailleurs, les pertes de la substance sont assez élevées et, selon l'OCDE, le calcul des  $\text{LC}_{50}$  à partir des concentrations nominales n'est pas acceptable si les pertes sont supérieures à 20%. Par conséquent, ces résultats ne seront pas utilisés.*

Parrish *et al.*, 1976 ont testé l'effet du chlordane sur plusieurs organismes marins dont *Penaeus duorarum* (crevette rose, 50 – 65 mm de long) et *Palaemonetes pugio* (20 – 29 mm de long). La pureté du produit était de 99.9%. Le milieu d'essai a été confectionné à partir d'eau de mer naturelle non filtrée. Un système de renouvellement continu a été utilisé et les concentrations d'essai ont été mesurées une fois au cours des 96 heures d'exposition par chromatographie. Les valeurs des concentrations nominales et mesurées sont indiquées et révèlent une perte de produit > à 20%. L'acétone a été utilisée comme solvant et deux groupes témoins contenant la même quantité de solvant ont été testés. Les organismes ont été acclimatés aux conditions de laboratoire pendant au moins 10 jours et durant les 48 heures précédant les essais, la mortalité n'a pas excédée les 1%. Aucune alimentation ne leur a été fournie durant les tests. 20 organismes, répartis en deux groupes de 10 individus dans 20 L de milieu, ont été utilisés pour chacune des 5 concentrations d'essai. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée dans les groupes témoins. Les  $\text{LC}_{50}$  sur 96h ont été déterminées à partir des concentrations mesurées :

- Pour *Penaeus duorarum* :  $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.4  $\mu\text{g/L}$  (intervalle de confiance à 95% : 0.3 - 0.6  $\mu\text{g/L}$ ) à une température de 28.4 (27.5 – 30)  $^\circ\text{C}$  et une salinité de 21.8 (20 – 25) ‰.
- Pour *Palaemonetes pugio* :  $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 4.8  $\mu\text{g/L}$  (intervalle de confiance à 95% : 4 - 6  $\mu\text{g/L}$ ) à une température de 30 (27.5 – 32)  $^\circ\text{C}$  et une salinité de 22.7 (15 – 30) ‰.

*Malgré l'utilisation d'un système dynamique, une perte importante de produit a été mise en évidence par les analyses chimiques. Mais il a été tenu compte de cette perte en calculant les  $\text{LC}_{50}$  à partir de concentrations mesurées. Il n'y a pas d'informations sur la teneur en oxygène dissous et la quantité de solvant utilisé mais dans*

---

<sup>30</sup> American Public Health Association (APHA), 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater, 18<sup>th</sup> edn. Washington, DC.

*L'ensemble ces essais sont relativement bien renseignés. Il est à noter que l'eau de mer utilisée n'a pas été filtrée, ce qui peut être une source de nourriture (phytoplancton, particules en suspension). Compte-tenu de ces remarques, ces résultats sont considérés comme valides avec restrictions.*

L'essai de Randall *et al.*, 1979 sur *Daphnia magna* (< 24 h) a été réalisé dans le cadre d'une étude sur la toxicité aiguë du chlordane déchloré par rapport à celle du non déchloré. Deux produits ont été testés : le chlordane technique (60% chlordane, 40% composés dérivés) et un concentré de chlordane émulsifiable (72% composés actifs). Les conditions du milieu d'essai étaient : statiques, température de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH de 8,2, dureté en  $\text{CaCO}_3$  de 192 mg/L, alcalinité en  $\text{CaCO}_3$  de 138 mg/L. L'acétone a été utilisée comme solvant. Un minimum de cinq concentrations ont été testées en 12 exemplaires. 60 daphnies ont été utilisées pour chaque concentration d'essai, réparties en 12 groupes de 5 individus. Une  $\text{LC}_{50}$  (48 h) = 0.097 (0.087 – 0.107) mg/L et une  $\text{LC}_{50}$  (48 h) = 0.156 (0.142 – 0.171) mg/L ont été déterminées pour le chlordane technique et le concentré de chlordane émulsifiable respectivement. L'étude indique également que ces deux produits sont 8 fois moins toxiques vis-à-vis de *Daphnia magna* après avoir subi une déchloration.

*Des informations cruciales sont manquantes : la présence de groupes témoins par rapport au solvant et au milieu seul, la mortalité obtenue dans ces groupes témoins, les valeurs des concentrations d'essai, la concentration en oxygène dissous, la quantité de solvant utilisée, les conditions de cultures des daphnies. Il n'est pas précisé si des mesures particulières ont été prises pour limiter la perte de substance et il n'y a pas eu de suivi analytique. Par conséquent ce résultat ne sera pas retenu.*

Sanders, 1969 a réalisé un essai statique sur *Gammarus lacustris*. Les conditions d'élevage et d'essai sont bien décrites. Le milieu a été élaboré à partir d'eau reconstituée déionisée. Le pH et l'alcalinité étaient de 7.1 et 30 mg/L respectivement. Le toxique a été testé sur plusieurs températures à  $\pm 1^\circ\text{C}$  :  $40^\circ\text{F}$  ( $4.4^\circ\text{C}$ ),  $50^\circ\text{F}$  ( $10^\circ\text{C}$ ),  $60^\circ\text{F}$  ( $15.6^\circ\text{C}$ ) et  $70^\circ\text{F}$  ( $21.1^\circ\text{C}$ ). L'éthanol a été utilisé comme solvant à une concentration n'excédant pas 1 mL/L. Avant le début des tests, le milieu a été aéré pendant 10 min. Les tests se sont ensuite déroulés sans aération. Les organismes ont été acclimatés au milieu d'essai pendant 2 heures. Un test préliminaire a été mené afin de déterminer la plage des concentrations de l'essai définitif. 4 à 5 concentrations et un groupe témoin ont été testés. Chaque récipient d'essai contenait 10 individus âgés de 2 mois dans 4 litres de milieu. La mortalité a été enregistrée chaque 24 heures. A  $21.1^\circ\text{C}$ , il a été déterminé une  $\text{LC}_{50}$  (48 h) = 0.08 (0.062 – 0.102) mg/L et une  $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.026 (0.021 – 0.03) mg/L.

*Un certain nombre de paramètres importants ne sont pas indiqués : l'existence d'un témoin par rapport au solvant, le pourcentage de mortalité obtenue dans le groupe témoin et la teneur en oxygène dissous. Par ailleurs, la période d'acclimatation semble courte (48h minimum sont recommandées) et l'éthanol a été utilisé comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). L'essai a été réalisé sans renouvellement de milieu et il n'est pas précisé si des précautions ont été prises pour limiter les pertes de substance ni s'il y a eu un suivi analytique des concentrations d'essai. Par conséquent, ce résultat ne sera pas retenu.*

Sanders, 1972 a réalisé deux types d'essai : un essai statique (à  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) sur *Gammarus fasciatus* et *Palaemonetes kadiakensis* et un essai en flot continu (à  $18 - 20^\circ\text{C}$ ) sur *Palaemonetes kadiakensis* à l'aide du système de Mount and Brungs, 1967 (flux max. de 400 mL/min). Pour l'essai réalisé sur *Gammarus fasciatus*, les conditions de milieu étaient : eau reconstituée déionisée, pH de 7.1, alcalinité de 30 mg/L et concentration en oxygène dissous de 8 mg/L. Les conditions de milieu appliquées pour les essais sur *Palaemonetes kadiakensis* étaient : eau naturelle, pH de 7.4, alcalinité de 260 mg/L et concentration en oxygène dissous de 8 mg/L. Le même protocole a été utilisé pour les deux types d'essai. L'éthanol a été utilisé comme solvant à une

concentration n'excédant pas 1 mL/L. Les organismes sont restés pendant 96 heures dans les aquariums qui ont été utilisés durant l'essai. Suite à cette période, seuls les lots d'organismes présentant une mortalité < à 10 % ont été sélectionnés pour l'essai. Une période d'acclimatation au milieu d'essai a été menée sur 24 heures. Un test préliminaire a permis de déterminer la plage des concentrations de l'essai définitif. 5 concentrations et un groupe témoin ont été testés en duplicata. 20 individus ont été utilisés pour chaque concentration d'essai, répartis en 2 groupes de 10 individus dans 4 L de milieu. La mortalité a été enregistrée chaque 24 heures. En milieu statique, une  $LC_{50}$  (96 h) = 0.04 (0.021 – 0.06) mg/L et une  $LC_{50}$  (48 h et 96 h) = 0.01 (0.007 – 0.013) mg/L ont été déterminées pour *Gammarus fasciatus* et *Palaemonetes kadiakensis* respectivement. Une  $LC_{50}$  (5 j.) = 0.008 mg/L a également été déterminée pour *Palaemonetes kadiakensis* en milieu statique. L'essai réalisé dans des conditions de renouvellement continu a permis de déterminer une  $LC_{50}$  (48 h) = 0.032 mg/L, une  $LC_{50}$  (96 h) = 0.004 mg/L et une  $LC_{50}$  (5 j.) = 0.0025 mg/L.

*Ces essais sont assez bien renseignés mis à part sur la présence de témoins contenant le solvant, la valeur des concentrations d'essai et la mortalité obtenue dans les groupes témoins. En comparant les deux  $LC_{50}$  (96 h) et  $LC_{50}$  (5 j.) obtenues sur *Palaemonetes kadiakensis* en essai statique et en flot continu, la toxicité du chlordane semble avoir été sous-estimée pour les essais réalisés en conditions statiques. Il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations pour évaluer la quantité de substance effectivement présente dans le milieu. Par ailleurs, le nombre de réplicats réalisés est inférieur à celui recommandé par la ligne directrice 202 de l'OCDE (4 réplicats) qui recommande également une période d'acclimatation de 48 heures. Compte-tenu de ces remarques, les essais réalisés sur 96 heures et 5 jours en flot continu seront considérés avec restrictions et les essais statiques ne seront pas retenus.*

#### Crustacés :

Les résultats de Caldwell, 1977 sur *Cancer magister* n'ont pas pu être vérifiés dans la publication originale.

*Il n'est donc pas possible de juger de leur validité.*

Johnson and Finley, 1980 rapportent un résultat aigu réalisé sur *Orconectes nais* en flot continu avec une  $LC_{50}$  (96 h) = 0.05 mg/L.

*L'origine de la donnée n'est pas précisée et il n'y a pas de détail sur le protocole expérimental.*

#### Mollusques :

Les résultats de Butler *et al.*, 1960 et de Keller, 1993 n'ont pas pu être vérifiés dans les publications originales.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ces essais et les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

Parrish *et al.*, 1976 ont également déterminée une  $EC_{50}$  sur 96 heures (effet sur la croissance de la coquille) pour l'huître *Crassostrea virginica* selon le même protocole (décrit précédemment pour micro-crustacés), soit : système dynamique, période d'acclimatation de 10 jours, 5 concentrations testées en duplicata, 20 organismes par concentration d'essai, deux groupes témoins par rapport aux solvants, absence d'alimentation. La température était de 31.6 (31 – 32) °C et la salinité de 24.3 (20 – 28) ‰. Une  $EC_{50}$  (96 h) = 6.2 µg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

*Les remarques faites pour l'essai sur *Penaeus duorarum* et *Palaemonetes pugio* (cf. partie 2.1 micro-crustacés) sont également valables pour ce résultat. Il est donc jugé valide avec restrictions.*

### Insectes :

Les résultats de Konar, 1968, Mayer and Ellersieck, 1986 et de Cope, 1965 n'ont pas pu être consultés dans les publications originales.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ces essais et les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

LaBrecque *et al.*, 1956 ont étudié la toxicité du chlordane sur des larves de *Anopheles quadrimaculatus*. 3 concentrations ont été testées en deux exemplaires : 0.001 mg/L, 0.01 mg/L et 0.1mg/L. Après 48 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été observée pour 0.001 et 0.01 mg/L de chlordane et une mortalité de 60 % a été enregistrée dans le lot exposé à 0.1 mg/L de chlordane.

*Les informations rapportées sont insuffisantes pour valider ce résultat.*

L'essai de Moore *et al.*, 1998 sur *Chironomus tentans* (âgés de 10 à 13 jours) utilise de même protocole de l'essai réalisé sur micro-crustacés décrit plus haut, avec néanmoins quelques modifications : 6 individus ont été utilisés par réplicat et chaque individu a été nourri au début du test. Un suivi analytique des concentrations d'essai révèle une perte de produit de 33.6 % sur 48 heures. Une LC<sub>50</sub> (48 h) = 0.0058 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*Les remarques faites pour l'essai sur Daphnia magna (cf. partie 2.1 micro-crustacés) sont également valables pour ce résultat. Il ne sera pas retenu.*

Dans US-EPA, 1980 est citée une donnée issue de Sanders and Cope, 1968 qui a pu être vérifiée dans la publication originale. L'essai a été réalisé sur *Pteronarcys californicus* dans des conditions de milieu (15.5 ± 0.5°C ; pH : 7.1 ; O<sub>2</sub> dissous : 3 - 7 mg/L, alcalinité : 35 mg/L) statiques. Des groupes de 10 organismes ont été exposés à 4 ou 5 concentrations durant 96 heures. Un groupe témoin a également été réalisé. De l'éthanol a été utilisé comme solvant. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0015 (0.009 – 0.024) mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*La concentration de solvant utilisée et la réalisation d'un témoin par rapport à ce solvant ne sont pas précisés. Il n'est pas indiqué si des mesures particulières ont été prises pour limiter les pertes de substance et il n'y a pas eu de suivi analytique. Ce résultat ne sera donc pas utilisé.*

### Poissons :

Les essais aigus de Bansal *et al.*, 1980 font partis d'une étude de la toxicité chronique du chlordane vis-à-vis de 4 espèces de poissons : *Labeo rohita*, *Cirrhina mrigala*, *Catla catla* et *Cyprinus carpio* (cf. partie 2.2). Pour les 4 espèces, les conditions expérimentales étaient : système statique, température de 25.8 (24.3 – 28.4) °C, pH de 6.8 – 7.6, acidité de 3.2 (2.8 – 4.4) mgCaCO<sub>3</sub>/L, alcalinité de 27 (24 – 33) mgCaCO<sub>3</sub>/L, dureté de 42 (38 – 47) mg de CaCO<sub>3</sub>/L et concentration en O<sub>2</sub> dissous de 5.4 (4.5 – 6.2) mg/L. Les larves ont été acclimatées aux conditions de milieu de l'essai durant 24 heures. Un mélange d'acétone et d'éthanol a été utilisé comme solvant. Des contrôles de la même quantité de solvant ont été réalisés. 10 concentrations ont été testées en duplicata. Pour les essais sur *Catla catla* et *Cyprinus carpio*, 20 larves ont été utilisées pour chaque concentration testée et pour les essais sur *Labeo rohita* et *Cirrhina mrigala* le nombre de larves utilisées était de 25 par concentration. Les LC<sub>50</sub> sur 96 heures ont été déterminées à partir des concentrations nominales et sont :

- pour *Labeo rohita* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.02 mg/L
- pour *Cirrhina mrigala* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.015 mg/L
- pour *Catla catla* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.012 mg/L

- pour *Cyprinus carpio* :  $LC_{50}$  (96 h) = 0.016 mg/L

*Les remarques faites pour les résultats chroniques provenant de cette publication (cf. partie 2.2) sont également valables pour ces résultats court terme. Ils ne seront pas pris en compte.*

Les essais de Cardwell and *al.*, 1977, Clemens and Sneed, 1959; Cope, 1965, Gupta *et al.*, 1984, Konar, 1968; Korn and Earnest, 1974, Ludemann and Neumann, 1960, Macek and *al.*, 1969, Mishra and Srivastava, 1984, Office of pesticide programs, 2000, Rai and Mandal, 1993, Ravikumar and Gupta, 1988 et de Schoettger, 1970 sur poissons sont cités dans US-EPA, 1980, AQUIRE, ou encore IPCS, 1984 mais les publications originales n'ont pas pu être consultées.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ces essais et les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

L'essai de Culley and Ferguson, 1969 sur *Gambusia affinis* (> 25 mm de long) a été réalisé dans des conditions de milieu ( $22.2 \pm 1.7$  °C ; dureté : 28 mg CaCO<sub>3</sub>/L ; pH 7.8) statiques. Pendant 1 à 5 jours précédent l'essai, les poissons sont restés dans une eau de qualité identique à celle utilisée dans l'essai. Durant cette période et jusqu'à 24 h avant le début de l'essai, ils étaient nourris quotidiennement. La pureté du chlordane était de 100 % et sa dissolution a été facilitée par l'ajout de 3 à 4 ml d'acétone par litre de solution d'essai. Des groupes témoins par rapport à l'eau de dilution et par rapport au solvant ont été réalisés. Trois à quatre concentrations ont été testées en duplicata. 12 poissons ont été utilisés pour chaque concentration d'essai répartis en 2 groupes de 6 individus dans 2.5 L de milieu. La charge était de 0.5 g de poissons par litres. La mortalité a été enregistrée toutes les 12 heures et les poissons morts étaient retirés. La  $LC_{50}$  sur 48 heures a été déterminée à 0.041 mg/L.

*L'essai est relativement bien renseigné mis à part sur la mortalité obtenue dans les groupes témoins, la valeur des concentrations testées et la concentration en oxygène dissous. L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Cependant, Culley and Ferguson, 1969 ont réalisé des tests préliminaires qui révèlent une tolérance de *Gambusia affinis* à 1% d'acétone (soit 10 mL/L) sur 36 heures d'exposition. La période d'acclimatation est également plus courte que celle recommandée par la ligne directrice 203 de l'OCDE (un minimum de 7 jours est recommandé). La durée de l'essai est inférieure à celle recommandée pour les poissons (96 h). Il n'est pas précisé si des mesures particulières ont été prises pour limiter les pertes de substance et il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations d'essai. Compte-tenu de ces remarques, ce résultat ne sera pas pris en compte.*

Henderson *et al.*, 1960 rapportent les données de Henderson *et al.*, 1959 sur la toxicité du chlordane vis-à-vis de *Lepomis macrochirus* (3.8 à 6.4 cm de long, 1 à 2 g), *Pimephales promelas* (3.8 à 6.4 cm, 1 à 2 g), *Carassius auratus* (3.8 à 6.4 cm, 1 à 2 g) et *Poecilia reticulata* (6 mois, 1.9 à 2.5 cm, 0.1 à 0.2 g). Les essais ont été réalisés selon la méthode décrite par Doudoroff *et al.*, 1951. Un essai préliminaire a permis de déterminer la plage des concentrations de l'essai définitif. Cinq concentrations ont été testées en duplicata : 1 mg/L, 1.8 mg/L, 3.2 mg/L, 5.6 mg/L et 10 mg/L. Pour chaque concentration, deux lots de 5 poissons ont été utilisés. Ces lots ont été testés dans 10 L de milieu sauf pour l'essai réalisé sur *Poecilia reticulata* où les lots étaient testés dans 2 L de milieu. Deux types de milieu ont été utilisés : une eau dure (1) (dureté : 400 mg/L, alcalinité : 360 mg/L, pH : 8.2) et une eau douce (2) (dureté : 20 mg/L, alcalinité : 18 mg/L, pH : 7.4). Pour ces deux milieux, la température a été maintenue constante à 25 °C et la concentration initiale en oxygène dissous était de 8 mg/L. Les solutions d'essai contenaient 0.001 à 1 % d'acétone. La pureté du produit était de 100%. Un suivi des caractéristiques physico-chimiques de l'eau de dilution a été réalisé et n'a pas révélé de différences

significatives avec le groupe témoin contenant l'eau de dilution. La concentration en oxygène dissous a été maintenue supérieure à 4 mg/L. La mortalité a été enregistrée chaque 24 heures. Les LC<sub>50</sub> obtenues sur 96 heures et déterminées à partir des concentrations nominales sont :

- LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.052 mg/L pour *Pimephales promelas* (2)
- LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.069 mg/L pour *Pimephales promelas* (1)
- LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.022 mg/L pour *Lepomis macrochirus* (2)
- LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.082 mg/L pour *Carassius auratus* (2)
- LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.19 mg/L pour *Poecilia reticulata* (2)

Même s'il n'a pas été possible de consulter l'article de Doudoroff et al., 1951, le protocole expérimental est relativement bien détaillé. Une concentration en oxygène dissous supérieure à 4 mg/L a été maintenue. Néanmoins, selon la ligne directrice 203 de l'OCDE, celle-ci doit normalement rester supérieure à 60 % de la saturation soit 5 mg/L environ. La mortalité obtenue dans les groupes témoins n'est pas indiquée. Par ailleurs, il n'est pas précisé si des témoins par rapport au solvant ont été réalisés. De plus, une quantité d'acétone supérieure à 0.01% (0.1 mL/L) n'est pas recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices. Les LC<sub>50</sub> trouvées se situent en deçà de la plus faible des concentrations testées. Les concentrations testées sont bien supérieures à la limite de solubilité de la substance. Il n'est pas précisé si la substance a été complètement solubilisée par l'ajout d'acétone et il n'y a pas eu de mesures particulières pour limiter les pertes de substance. Par ailleurs, il n'y a pas eu de suivi analytique. Compte-tenu de ces remarques, il ne sera pas tenu compte de ces résultats.

Johnson and Finley, 1980 reportent des essais aigus réalisés sur le chlordane technique (1) (60% chlordane, 40% composés dérivés) et sur le chlordane expérimental HCS-3260 (2) (pureté de la substance = 95 %). Ces essais sont également cités dans Mayer and Eilersieck, 1986. Ils ont été réalisés dans des conditions statiques (eau reconstituée déionisée), sans aération du milieu. Les espèces utilisées étaient : *Ictalurus punctatus* (1.8 – 1.9 g), *Lepomis macrochirus* (1.3 – 1.4 g), *Salmo trutta* (0.6 g), *Oncorhynchus kisutch* (0.6 g), *Oncorhynchus clarki* (1 g), *Pimephales promelas* (0.7 g), *Micropterus salmoides* (0.1 g) et *Oncorhynchus mykiss* (1 – 1.5 g). La température du milieu était de 12 ± 1°C ou de 17 ± 1°C selon l'espèce d'étude. L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration n'excédant pas 0.5 mL/L. Le pH a été maintenu de 7.2 à 7.5, l'alcalinité de 30 à 35 mg/L et la dureté de l'eau de 40 à 50 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Les organismes ont été acclimatés à l'eau de dilution pendant 1 à 3 jours. Aucune alimentation n'a été fournie durant la période d'acclimatation et le test. Au moins 6 concentrations d'essai en duplicata ont été testées. Pour chaque espèce, un minimum de 10 organisme a été exposé, pendant 96 h, à chaque concentration d'essai dans des aquariums de 18.9 L contenant 15L de solution d'essai. Des précautions ont été prises de manière à ce que le taux de charge n'excède pas 0.8 g/L par récipient d'essai. La mortalité a été mesurée toutes les 24 heures. Les LC<sub>50</sub> obtenues sont :

- *Ictalurus punctatus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0067 (0.0031 – 0.0145) mg/L (1)  
LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0458 mg/L (2)
- *Lepomis macrochirus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.057 (0.04 – 0.081) mg/L (1)  
LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0293 mg/L (2)
- *Salmo trutta* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0111 (0.0093 – 0.0131) mg/L (1)
- *Oncorhynchus kisutch* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.014 (0.011 – 0.017) mg/L (1)
- *Oncorhynchus clarki* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.027 (0.024 – 0.031) mg/L (1)
- *Pimephales promelas* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.115 (0.062 – 0.214) mg/L (1)  
LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0248 mg/L (2)
- *Micropterus salmoides* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.003 (0.0022 – 0.0042) mg/L (1)
- *Oncorhynchus mykiss* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.042 (0.037 – 0.048) mg/L (1)  
LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.0249 (0.0161 – 0.0385) mg/L (2)

*Des informations cruciales sont absentes comme notamment l'existence de témoins contenant le solvant, la mortalité obtenue dans le groupe témoin, la teneur en oxygène dissous et la réalisation d'un suivi analytique des concentrations d'essai. Par ailleurs, la période d'acclimatation ne suit pas les recommandations de la ligne directrice 203 l'OCDE : elle est plus courte (un min de 7 jours est recommandé) et les poissons n'ont pas été alimentés. De plus, l'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Il ne sera pas tenu compte de ces résultats.*

Les essais de Katz, 1961 sur *Oncorhynchus mykiss* (51 – 79 mm de long, 3.2 g), *Oncorhynchus tshawytscha* (51 – 114 mm, 1.45 – 5 g), *Oncorhynchus kisutch* (57 – 76 mm, 2.7 – 4.1 g) et *Gasterosteus aculeatus* (22 – 44 mm, 0.38 – 0.77 g), ont été réalisés selon la méthode décrite par Doudoroff *et al.*, 1951. Les solutions d'essai ont été aérées avec de l'air comprimé. La pureté du chlordane était de 100%. L'acétone a été utilisée comme solvant et un groupe témoin par rapport au solvant a été réalisé. Les caractéristiques physico-chimiques du milieu d'élevage étaient identiques à celles du milieu d'essai. La température était de  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , le pH s'est échelonné de 6.8 à 7.4 et l'alcalinité de 45 à 57 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ . A la différence des différentes espèces de truites, *Gasterosteus aculeatus* n'a pas été nourri avant l'essai et a été testé en milieu salin à 5 ‰ et à 25 ‰. Un test préliminaire a permis de déterminer le nombre de poissons à utiliser pour chaque concentration d'essai : si aucun survivant n'a été constaté au bout de 48 heures alors seulement 5 poissons seront utilisés par concentration d'essai, sinon 10 à 20 poissons seront testés par concentration. Les différentes espèces de truites et *Gasterosteus aculeatus* ont été testés par groupes de 3 à 5 et de 11 à 20 respectivement, pour chaque réplicat. Il a été vérifié que la charge de poisson par récipient d'essai ne dépassait pas 1 g/L. Aucune mortalité n'a été observée dans les groupes témoins. Les  $\text{LC}_{50}$  déterminées au bout de 96 heures d'exposition étaient :

- $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.044 mg/L pour *Oncorhynchus mykiss*
- $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.056 mg/L pour *Oncorhynchus kisutch*
- $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.057 mg/L pour *Oncorhynchus tshawytscha*
- $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.09 mg/L pour *Gasterosteus aculeatus* à 5‰
- $\text{LC}_{50}$  (96 h) = 0.16 mg/L pour *Gasterosteus aculeatus* à 25‰

*Il n'a pas été possible de consulter l'article de Doudoroff *et al.*, 1951, ce qui ne permet pas de déterminer les détails du protocole expérimental. Il n'est pas précisé si des mesures ont été prises pour limiter les pertes de substance, ni si un suivi analytique a été réalisé. Ce résultat ne sera pas utilisé.*

Mayer and Ellersieck, 1986 citent des  $\text{LC}_{50}$  (96 h) pour plusieurs espèces de poissons. Cependant, ces résultats n'ont pas pu être vérifiés dans la publication originale. Seul les valeurs les plus faibles ont été reportées dans le tableau.

*Il n'est pas possible de juger de la validité des essais et les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

Mehrle *et al.*, 1974 a étudié l'effet du type nourriture administré à *Oncorhynchus mykiss* sur sa tolérance vis-à-vis du chlordane. Les poissons ( $0.4 \pm 0.1$  g) ont été gardés pendant 42 jours dans des conditions ( $17 \pm 0.5^\circ\text{C}$  ; pH : 7.4 ; alcalinité : 237 mg/L ; dureté : 272 mg/L) dynamiques (1 L/min) avec aération du milieu et une photopériode de 16 heures. Les poissons étaient répartis en 6 groupes de 300 individus dans des aquariums de 80 litres et chaque groupe était alimenté quotidiennement par un type de nourriture différent. Suite à cette période, des essais statiques ont été réalisés dans les mêmes conditions de température et de pH. Le milieu d'essai a été élaboré à partir d'eau reconstituée (alcalinité : 35 mg/L ; dureté : 40 mg/L). L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration de 1 mL/L. Un contrôle contenant la même quantité d'acétone a été réalisé. Des groupes de 10 poissons ont été exposés à chacune des 10 concentrations d'essai. Différentes valeurs de  $\text{LC}_{50}$  (96 h) ont été

obtenues en fonction du type de nourriture administrée avant le début des essais. La plus faible LC<sub>50</sub> (96 h) a été déterminée égale à 0.0082 (0.0061 – 0.011) mg/L et la plus forte égale à 0.047 (0.038 – 0.059) mg/L. Seul la plus faible valeur a été reportée dans le tableau.

*Un certain nombre de paramètres importants ne sont pas renseignés: mortalité obtenue dans le groupe témoin, concentration en oxygène dissous, valeurs des concentrations testées, densité de la population par récipient d'essai. L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Par ailleurs, la ligne directrice 203 de l'OCDE préconise de ne pas alimenter les poissons 24 heures avant le début de l'essai et recommande une période d'acclimatation de 7 jours au minimum. Il n'y a pas eu de suivi analytique et il aucune précaution ne semble avoir été prise pour limiter les pertes de substance. Il ne sera pas tenu compte de ce résultat.*

L'essai de Moore *et al.*, 1998 sur *Pimephales promelas* (< 24 h) a été mené selon le même protocole que ceux réalisés sur micro-crustacés (décrits plus haut), soit : milieu statique, 5 concentrations d'essai testées en 3 exemplaires, 10 individus par réplicat, absence d'alimentation et une perte de produit a été mesurée à 33.6 %. Une LC<sub>50</sub> (48 h) = 0.0214 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*Les remarques faites pour l'essai sur micro-crustacés (cf. partie 2.1 micro-crustacés) sont également valables pour ce résultat. Il ne sera pas utilisé.*

Parrish *et al.*, 1976 ont testé l'effet du chlordane sur micro-crustacés et mollusques (essais décrits plus haut) mais également sur deux espèces de poissons marins: *Cyprinodon variegatus* (19 – 27 mm) et *Lagodon rhomboides* (34 – 62 mm). Le même protocole expérimental a été utilisé, soit : système dynamique, période d'acclimatation de 10 jours, 5 concentrations testées en duplicata, 20 organismes par concentration d'essai, deux groupes témoins par rapport aux solvants, absence d'alimentation. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'été enregistrée dans les groupes témoins. Les LC<sub>50</sub> sur 96h ont été déterminées à partir des concentrations mesurées :

- Pour *Cyprinodon variegatus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 24.5 µg/L (intervalle de confiance à 95% : 19.9 – 28.6 µg/L) à une température de 30.7 (29 – 32) °C et une salinité de 25 (18 – 28) ‰.
- Pour *Lagodon rhomboides* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 6.4 µg/L (intervalle de confiance à 95% : 5 – 7.3 µg/L) à une température de 31.3 (30 – 32.5) °C et une salinité de 24.6 (22 – 28) ‰.

*Les remarques faites pour l'essai sur *Penaeus duorarum* et *Palaemonetes pugio* (cf. partie 2.1 micro-crustacés) sont également valables pour cet essai. Ces essais sont donc considérés comme valides avec restrictions.*

Dans US-EPA, 1980 est cité une donnée issue de Parrish and *al.*, 1978. Il est rapporté que le test a été réalisé en condition de renouvellement continu et que les concentrations ont été mesurées.

*Malgré l'absence d'informations plus précises sur le protocole expérimental de cet essai, il sera tenu compte de ce résultat sachant qu'il a été exprimé en terme de concentrations mesurées.*

L'essai de Randall *et al.*, 1979 sur *Lepomis macrochirus* (< 1 an, 0.26 g) a été réalisé dans le cadre d'une étude sur la toxicité aiguë du chlordane déchloré par rapport à celle du non déchloré. Deux produits ont été testés : le chlordane technique (60% chlordane, 40% composés dérivés) et un concentré de chlordane émulsifiable (72% composés actifs). Les conditions du milieu d'essai étaient : statiques, température : 19 ± 1°C , pH : 8.2, dureté en CaCO<sub>3</sub> : 192 mg/L, alcalinité en CaCO<sub>3</sub> : 138 mg/L. L'acétone a été utilisée comme solvant. Un minimum de cinq concentrations ont été testées en 2 exemplaires. 20 poissons ont été utilisés pour chaque concentration d'essai, répartis en 2 groupes de 10 individus. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 0.041 (0.035 –

0.049) mg/L et une  $LC_{50}$  (96 h) = 0.062 (0.053 – 0.072) mg/L ont été déterminées pour le chlordane technique et le concentré de chlordane émulsifiable respectivement. L'étude indique également que ces deux produits sont 13 à 14 fois moins toxique vis-à-vis de *Lepomis macrochirus* après avoir subi une déchloration.

*Des informations importantes ne sont pas données : la présence de groupes témoins par rapport au solvant et au milieu seul, la mortalité obtenue dans ces groupes témoins, les valeurs des concentrations d'essai, la concentration en oxygène dissous, la quantité de solvant utilisée, la charge et les soins apportés aux poissons. Il n'y a pas eu de suivi analytique et de précautions pour limiter les pertes de substances. Par conséquent, il ne sera pas tenu compte de ce résultat.*

L'essai de Rao *et al.*, 1975 sur *Cyprinus carpio* (4 -5 cm de long) a été réalisé en système statique. Les poissons ont été acclimatés pendant une semaine aux conditions de milieu de l'essai (dureté de l'eau en  $CaCO_3$ : 75 - 90 mg/L (105 mg  $CaCO_3$ /L à la fin de l'essai), alcalinité en  $CaCO_3$ : 110 - 135 mg/L). Durant la période d'acclimatation et jusqu'à 48 h avant le début de l'essai, les poissons ont été nourris quotidiennement et aucune mortalité ni de réponses anormales des poissons n'ont été observées. Chaque récipient d'essai contenait 10 poissons et la charge était de 0.5 g/L. Des contrôles témoins ont également été réalisés. Un suivi analytique du pH, de la température et de la concentration en  $O_2$  dissous a été réalisé chaque 24 heures : le pH s'est échelonné de 7.2 à 7.8, la température n'a pas varié de plus de 3°C et la concentration en  $O_2$  dissous est restée > 5mg/L. La mortalité a été enregistrée toutes les 6 heures sur 96 heures d'exposition. Aucune mortalité n'est apparue dans les groupes témoins. La  $LC_{50}$  (96 h) = 0.0029 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*L'essai est relativement bien renseigné mis à part sur le nombre et les valeurs des concentrations testées, l'existence de réplicat et la température du milieu. La ligne directrice 203 de l'OCDE recommande des poissons de  $3 \pm 1$  cm de long. Il n'est pas fait mention de l'utilisation d'un solvant. Il n'y a pas eu de mesures particulières pour limiter les pertes de substance et il n'y a pas eu de suivi analytique. Ce résultat ne sera pas utilisé.*

L'essai de Verma *et al.*, 1982 a été conduit sur *Heteropneustes fossilis* (50 à 70 mm de long, 5 à 10 g) dans des conditions de milieu statiques. Après avoir vérifié la bonne santé des poissons, ils ont été gardés dans une eau de qualité identique à celle utilisée dans l'essai pendant 2 semaines. De la nourriture artificielle leur a été fournie quotidiennement durant cette période, jusqu'à 48 h avant le début de l'essai. Les caractéristique physico-chimiques de l'eau de dilution sont indiquées. Le pH et la concentration en  $O_2$  dissous ont été mesurés toutes les 24 heures. La température a été maintenue à  $18.2 \pm 2^\circ C$ , le pH a été déterminé à  $7.2 \pm 0.2$  et la concentration en  $O_2$  dissous à 4.84 mg/L. Des groupes de 10 individus ont été utilisés pour chaque concentration d'essai (de 0.32 mg/L à 0.72 mg/L) dans 80 L de milieu. Chaque concentration a été testée en duplicata. Un mélange d'acétone et d'éthanol (rapport 1:1) a été utilisé comme solvant et des groupes témoins contenant la même quantité de solvant ont été réalisés. Aucune mortalité n'est apparue dans ces témoins. Au bout de 96 h, la  $LC_{50}$  a été déterminée égale à 0.42 mg/L.

*L'essai est relativement bien renseigné. La concentration en oxygène dissous mesurée durant l'essai est légèrement inférieure à 60 % de sa valeur de saturation en air (recommandée par l'OCDE). Il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations. La valeur de  $LC_{50}$  est bien supérieure à la limite de solubilité, et il n'est pas possible de savoir si l'ajout de solvant a permis de véritablement solubiliser la substance durant l'essai. Par ailleurs, il n'est pas fait mention de précautions particulière pour limiter les pertes de substance. Ce résultat ne sera pas utilisé.*

### Amphibiens :

L'essai de Nishiuchi, 1980 et celui cité dans IPCS, 1984 n'ont pas pu être consultés dans les publications originales.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ces résultats.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Platyhelminthes	<i>Dugesia dorotocephala</i>	NOEC (13 j.)	0.2	3	Best <i>et al.</i> , 1981
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	NOEC	0.016	4	Cardwell and <i>al.</i> , 1977
Crustacés	<i>Orconectes nais</i>	LC <sub>50</sub> (35 j.)	0.0316	3	Johnson and Finley, 1980
Poissons	<i>Labeo rohita</i> <i>Cirrhina mrigala</i> <i>Catla catla</i> <i>Cyprinus carpio</i>	NOEC (30 j.)	0.00042	3	Bansal <i>et al.</i> , 1980
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	NOEC	0.00063	2	Parrish and <i>al.</i> , 1978
	<i>Lepomis macrochirus</i>	NOEC	0.0016	4	Cardwell and <i>al.</i> , 1977
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	NOEC (28 j.)	0.0071	2	Parrish <i>et al.</i> , 1976

\* espèce marine

### Platyhelminthes :

L'essai de Best *et al.*, 1981 a été réalisé sur des planaires d'eau douce, *Dugesia dorotocephala* (16.5 ± 1.5 mm de long), en milieu semi-statique (renouvellement du milieu quotidien). Une solution commerciale de chlordane composée de 73% de chlordane, 23% de solvant et 4% de composés « inertes » a été utilisée. Les planaires ont été acclimatés aux conditions du milieu d'essai pendant 3 jours. Durant cette période et tout au long du test, les individus n'ont pas été alimentés. Cinq concentrations (0.2, 1, 5, 10 et 25 mg/L) ont été testées en 5 exemplaires chacune. Des groupes de 10 individus ont été exposés aux concentrations d'essai dans 50 ml de milieu. 12 groupes témoins de l'eau de dilution contenant chacun 10 individus ont également été réalisés. La température du milieu était de 22 ± 1°C. L'essai a duré 13 jours. La mortalité et les anomalies corporelles ont été enregistrées quotidiennement. Aucun effet sur la mortalité n'a été observé au bout de 13 jours d'exposition pour les groupes témoins et pour la plus faible des concentrations testées. Des effets sur la morphologie (lésions ou résorptions de la tête) ont été observés dès 1 mg/L de chlordane.

*L'effet observé (morphologie) n'est pas habituellement utilisé pour l'évaluation de l'écotoxicité et il n'existe pas de référentiel pour évaluer la pertinence de cet essai. Les milieux ont été renouvelés mais il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations d'essai. Les concentrations testées sont bien supérieures à la limite de solubilité de la substance. Il ne sera pas tenu compte de ce résultat.*

### Micro-crustacés :

L'essai de toxicité chronique de Cardwell and *al.*, 1977 sur *Daphnia magna* est cité dans le rapport de l'US-EPA, 1980, mais la publication originale n'a pas pu être consultée.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport, il n'a pas été possible de juger de la validité de l'essai.*

### Crustacés :

Johnson and Finley, 1980 font mention d'un essai chronique réalisé sur *Orconectes nais* en flot continu avec une  $LC_{50}$  (35 j.) = 0.0316 mg/L.

*Les détails du protocole ne sont pas précisés et la source originale de la donnée n'est pas disponible. Néanmoins il apparaît que le critère d'effet mesuré (mortalité) n'est pas pertinent pour la détermination d'une toxicité chronique. Par conséquent, ce résultat ne sera pas utilisé.*

### Poissons :

Bansal *et al.*, 1980 ont testé la toxicité du chlordane sur 4 espèces de carpe, *Labeo rohita*, *Cirrhina mrigala*, *Catla catla* et *Cyprinus carpio*, au stade larvaire (3 jours, 8 mm de long). Les conditions expérimentales étaient : température de 25.8 (24.3 – 28.4) °C, pH de 6.8 – 7.6, acidité de 3.2 (2.8 – 4.4) mg CaCO<sub>3</sub>/L, alcalinité de 27 (24 – 33) mg CaCO<sub>3</sub>/L, dureté de 42 (38 – 47) mg CaCO<sub>3</sub>/L et concentration en O<sub>2</sub> dissous de 5.4 (4.5 – 6.2) mg/L. Un mélange d'acétone et d'éthanol a été utilisé comme solvant. Des contrôles de la même quantité de solvant ont été réalisés. 10 concentrations ont été testées en duplicata sur 30 jours. Pour les essais sur *Catla catla* et *Cyprinus carpio*, 20 larves ont été utilisées par concentration testée et pour les essais sur *Labeo rohita* et *Cirrhina mrigala* le nombre de larves utilisées était de 25. Durant la période d'acclimatation de 24 h et les 15 premiers jours de l'essai, les larves ont été nourries deux fois par jour avec du phytoplancton et du zooplancton déshydratés. Les 15 derniers jours, de la nourriture artificielle leur a été administrée. L'eau était transvasée quotidiennement à l'aide d'un siphon pour mieux retirer les débris. Après 30 jours d'exposition, le nombre de survivants et la croissance (poids humide) ont été mesurés. A partir de ces résultats, un produit a été calculé en multipliant le nombre de survivants par le poids humide moyen obtenu au bout de 30 jours d'exposition. Ce produit a ensuite été comparé statistiquement à celui déterminé pour le groupe témoin. Pour les 4 espèces étudiées, une NOEC (30 j.) = 0.00042 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*Des informations sont manquantes : la mortalité obtenue dans le groupe témoin, la valeur des concentrations d'essai, le poids initial des poissons, la réalisation d'un témoin avec l'eau de dilution, la concentration de solvant utilisée, le volume des récipients d'essai (taux de charge). Une variation importante de la température est rapportée au cours du test, aucun renouvellement du milieu n'a été effectué et les résultats ont été déterminés à partir des concentrations nominales. L'absence de suivi analytique ne permet pas de connaître les concentrations véritablement présentes dans le milieu. Par conséquent, ce résultat ne sera pas utilisé.*

L'essai de toxicité chronique de Cardwell and *al.*, 1977 sur *Lepomis macrochirus* est cité dans le rapport de l'US-EPA, 1980, mais la publication originale n'a pas pu être consultée.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport, il n'a pas été possible de juger de la validité de ce résultat.*

Parrish *et al.*, 1976 ont réalisé un essai de toxicité chronique aux premiers stades de la vie sur *Cyprinodon variegatus*. Le milieu a été préparée à partir d'eau de mer naturelle filtrée (17.4 ‰). La température du milieu était de 30 ± 1°C. Un système de renouvellement continu a été utilisé et un suivi analytique hebdomadaire des concentrations d'essai a été effectué. Le polyéthylène glycol a été utilisé comme solvant à 0.9 mL/L. Un groupe témoin contenant la même quantité de solvant et un second groupe contenant seulement l'eau de dilution ont été réalisés. Les poissons géniteurs (3 cm de long) ont été acclimatés aux conditions de laboratoire pendant au moins 10 jours et durant les 48 heures précédentes les essais, la mortalité n'a pas excédée les 1%. 5 concentrations (valeurs nominales : 4.6, 10, 21, 46 et 100 µg/L) ont été testées en 4 exemplaires chacune. Des groupes de 20 embryons ont été utilisés par concentration d'essai. L'essai a démarré 1 heure après avoir confirmé la fécondation des œufs sous microscope et a duré 28 jours. La concentration en oxygène dissous a été mesurée toutes les semaines et est

restée supérieure à 50% de sa valeur de saturation. Les larves et juvéniles étaient nourris 6 fois par jour avec des nauplius d'artémia (*Artemia salina*). L'effet mesuré était le nombre de survivants. Pour toutes les concentrations testées et pour les contrôles, une mortalité des embryons de 10 à 24 % a été enregistrée. Aucune mortalité larvaire n'a été enregistré pour les groupes témoins et les deux plus faibles concentrations testées (4.6 et 10 µg/L, mesurées à 1.3 et 3.3 µg/L). A 21 µg/L (mesurée à 7.1 µg/L), la mortalité était de 3.7 % mais des troubles comportementaux (pertes d'équilibre, nage erratique) sont enregistrés. A 46 et 100 µg/L (mesurées à 17 et 36 µg/L) aucune larve n'a survie. Une EC<sub>04</sub>, pouvant être considérée comme équivalente d'une NOEC, peut donc être définie égale à 7.1 µg/L.

Les effets sur la fertilité ont également été étudiés : 20 œufs ont été placés dans chacune des 7 boîtes de Pétri (5 concentrations d'essai et 2 témoin) contenant les produits sexuels mâles et ont été incubés pendant 24 h à 30°C. Suivant cette période d'incubation, les œufs ont été examinés sous microscope ; 80 à 95 % des œufs ont été fécondés pour toutes les concentrations testées et pour les contrôles. Les concentrations testées en chlordane n'ont pas d'effets significatifs sur la fertilité de *Cyprinodon variegatus*. Les résultats sont exprimés en terme de concentration mesurées.

*L'essai est relativement bien renseigné et un suivi analytique a été réalisé. Le polyéthylène glycol a été utilisé comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Par ailleurs, certains paramètres ne sont pas conformes à ceux recommandés par la ligne directrice 210 de l'OCDE : l'alimentation des juvéniles (normalement 2 à 3 fois par jour), la concentration en oxygène dissous (devrait être > à 60% de sa valeur de saturation en air) et la température (recommandée à 25 ± 2°C). Sous ces restrictions, ce résultat est jugé valide.*

Dans US-EPA, 1980 est cité une donnée issue de Parrish and *al.*, 1978.

*Malgré l'absence d'informations plus précises sur le protocole expérimental de cet essai, il sera tenu compte de ce résultat sachant qu'il a été exprimé en terme de concentrations mesurées.*

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

Pour la plupart des études recensées, celles réalisées en système statique conduisent à des concentrations de toxicité plus élevées que pour celles réalisées en système renouvelé avec la mesure des concentrations d'essai. En effet, compte tenu des caractéristiques physico-chimiques du chlordane (substance volatile et sujette à l'adsorption), la réalisation d'essais statiques basés sur les concentrations nominales peut conduire à sous-estimer de façon importante sa toxicité.

Par ailleurs, le chlordane est très peu soluble dans l'eau, et pour de nombreux tests, les concentrations testées sont supérieures à la limite de solubilité. Même si parfois des solvants ont été utilisés, il n'est pas possible de savoir si les concentration nominales correspondent véritablement aux concentrations disponibles dans le milieu d'essai.

Ainsi, seules les résultats exprimés en terme de concentrations mesurées ont été validées. Etant donné que le chlordane est un "polluant historique", la grande majorité des études disponibles sont anciennes et pour très peu d'entre elles des mesures analytiques sont disponibles.

La plus faible donnée chronique validée disponible concerne *Cyprinodon variegatus* avec un NOEC égale à 0.63 µg/L (Parrish and *al.*, 1978). En aigu, des données pour seulement deux niveaux trophiques différents (invertébrés et poissons) ont pu être validées. Les invertébrés

apparaissent beaucoup plus sensibles que les poissons avec la plus faible des données aiguë pour *Panaeus duorarum* à 0.4 µg/L de Parrish et al., 1976.

En s'appuyant sur la méthodologie européenne recommandée (E.C., 2003), il n'est normalement pas possible de déterminer une PNEC en l'absence de données validées pour les algues. Cependant, compte tenu du fait que le chlordane est un insecticide sélectif et considérant les résultats disponibles, il est fort probable que le niveau trophique le plus sensible soit celui des invertébrés et non celui des algues.

La NOEC chronique obtenue sur les poissons ne peut être considérée comme suffisamment protectrice pour les micro-crustacés. La PNEC aquatique sera donc calculée en appliquant un facteur de sécurité de 1000 sur la LC<sub>50</sub> pour *Panaeus duorarum* à 0.4 µg/L de Parrish et al., 1976. La PNEC proposée est donc :  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.4/1000 \text{ µg/L}$ , soit :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 0.0004 \text{ µg/L}$$

#### 4. BIBLIOGRAPHIE

AQUIRE AQUatic toxicity Information REtrieval, US-EPA, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, MN.

Bansal, S. K., S. R. Verma, A. K. Gupta, R. C. Dalela (1980). "Predicting long-term toxicity by subacute screening of pesticides with larvae and early juveniles of four species of freshwater major carp." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 4: 224-231.

Best, J. B., M. Morita, B. Abbotts (1981). "Acute Toxic Responses of the Freshwater Planarian, *Dugesia dorotocephala*, to Chlordane." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26(4): 502-507.

Butler, P. A., A. J. Wilson, A. J. Rick (1960). "Effect of Pesticides on Oysters." *Proc. Natl. Shellfish Assoc.* 51: 23-32.

Caldwell, R. S. (1977). *Biological Effects of Pesticides on the Dungeness Crab*. EPA-600/3-77-131, U.S. Environ. Prot. Agency., EPA-600/3-77-131.

Cardwell, R. D., *al.* (1977). *Acute and chronic toxicity of chlordane to fish and invertebrates*. EPA 600/3-77-019. EPA Ecol. Res. Ser., U.S. Environ. Prot. Agency, EPA 600/3-77-019.

Clegg, T. J., J. L. Koevenig (1974). "The Effect of Four Chlorinated Hydrocarbon Pesticides and One Organophosphate Pesticide on ATP Levels in Three Species of Photosynthesizing Freshwater Algae." *Bot. Gaz.* 135(4): 368-372.

Clemens, H. P., K. E. Sneed (1959). *Lethal doses of several commercial chemicals for fingerling channel catfish*. US Department of the Interior.

Cope, O. B. (1965). *Sport Fishery Investigations. Research Findings of the Fish and Wildlife Service*,

Culley, D. D. J., D. E. Ferguson (1969). "Patterns of insecticide resistance in the mosquitofish, *Gambusia affinis*." *J. Fish. Res. Board Can.* 26(9): 2395-2401.

Doudoroff, P., B. G. Anderson, G. E. Burdick, S. P. Galtsoff, W. B. Hart, R. Patrick, E. R. Strong, E. W. Surber, W. M. Van Horn (1951). "Bioassay methods for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish." *Sewage and Industr. Wastes* 23(11): 1380-1397.

- E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.
- Ellington, J. J., F. E. Stancil, W. D. Payne, C. D. Trusty (1988). Measurement of hydrolysis rate constants for evaluation of hazardous waste land disposal: volume 3. Data on 70 chemicals., NTISPB88-234 042/AS; EPA/600/S3-88/028.
- Galindo, J. G. R., A. M. Jasso, C. V. Lizarraga (1996). "Toxic Effects of Organochlorine Pesticides on *Penaeus vannamei* Shrimps in Sinaloa, Mexico." *Chemosphere* 33(3): 567-575.
- Gupta, P. K., V. S. Mujumdar, P. S. Rao (1984). "Studies on the Toxicity of Some Insecticides to a Freshwater Teleost *Lebistes reticulatus*." *Acta Hydrochim.Hydrobiol.* 12(6): 629-636.
- Hawley, G. G. (1981). *The condensed chemical dictionary*. New York, NY, Van Nostrand Reinhol Co.
- Henderson, C., Q. H. Pickering, C. M. Tarzwell (1959). "Relative Toxicity of Ten Chlorinated Hydrocarbon Insecticides to Four Species of Fish." *Trans.Am.Fish.Soc.* 88(1): 23-32.
- Henderson, C., Q. H. Pickering, C. M. Tarzwell (1960). "The toxicity of organic phosphorus and chlorinated hydrocarbon insecticides to fish." In: C.M.Tarzwell (Ed.), *Biological Problems in WATER Pollution*, Trans.2nd Seminar, April 20-24, 1959, Tech.Rep.W60-3, U.S.Public Health Service, R.A.Taft Sanitary Engineering Center, Cincinnati, OH :76-88.
- HSDB (2000). *Hasardous Substances Data Bank* (online), National Library of Medicine. 2004.
- IPCS (1984). *Environmental Health Criteria 34: Chlordane*. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety., EHC 34.
- IPCS (1998). *Environmental Health Criteria 206: Methyl tertiary-Butyl Ether*. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety., EHC 206.
- Johnson, W. W., M. T. Finley (1980). *Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates*. Washington, DC, Resource publication 137.
- Katz, M. (1961). "Acute toxicity of some organic insecticides to three species of salmonids and to the threespine stickleback." *Trans.Am.Fish.Soc.* 90(3): 264-268.
- Keller, A. E. (1993). "Acute Toxicity of Several Pesticides, Organic Compounds, and a Wastewater Effluent to the Freshwater Mussel, *Anodonta imbecilis*, *Ceriodaphnia dubia*," *Bull.Environ.Contam.Toxicol.* 51(5): 696-702.
- Konar, S. K. (1968). "Experimental use of chlordane in fishery management." *Prog. Fish. Cult.* 30: 96-99.
- Korn, S., R. Earnest (1974). "Acute toxicity of twenty insecticides to striped bass, *Morone saxatilis*." *Calif. Fish Game* 60: 128.
- LaBrecque, G. C., J. R. Noe, J. B. Gahan (1956). "Effectiveness of Insecticides on Granular Clay Carriers Against Mosquito Larvae." *Mosq.News* 16: 1-3.
- Ludemann, D., H. Neumann (1960). "Acute Toxicity of Modern Contact Insecticides to Carp." *Z.Angew.Zool.* 47: 11-33.
- Macek, K. J., *al.* (1969). "The effects of temperature on the susceptibility of bluegills and rainbow trout to selected pesticides." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 4: 174.

- MacKay, D., W. Y. Shiu, K. C. Ma (2000). Physical-chemical properties and environmental fate Handbook, Chapman & Hall.
- Mayer, F. L. J., M. R. Ellersieck (1986). Manual of Acute Toxicity: Interpretation and Data Base for 410 Chemicals and 66 Species of Freshwater Animals. U.S. Dep. Interior, Fish Wildl. Serv., Resour. Publ. No. 160.
- McLeese, D. W., L. E. Burridge, J. Van Dinter (1982). "Toxicities of Five Organochlorine Compounds in Water and Sediment to *Nereis virens*." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 28(2): 216-220.
- Mehrle, P. M., W. W. Johnson, F. L. J. Mayer (1974). "Nutritional Effects on Chlordane Toxicity in Rainbow Trout." *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 12(5): 513 - 517.
- Mishra, J., A. K. Srivastava (1984). "Effects of Chlordane on the Blood and Tissue Chemistry of a Teleost Fish, *Heteropneustes fossilis*." *Cell. Mol. Biol.* 30(6): 519-523.
- Moore, M. T., D. B. Huggett, W. B. Gillespie, J. H. Rodgers, C. M. Cooper (1998). "Comparative Toxicity of Chlordane, Chlorpyrifos, and Aldicarb to Four Aquatic Testing Organisms." *Archives of Environmental Contamination & Toxicology* 34(2): 152-157.
- Mount, D. I., W. A. Brungs (1967). "A simplified dosing apparatus for fish toxicology studies." *Water Res.* 1: 21-29.
- Nishiuchi, Y. (1980). "Toxicity of Formulated Pesticides to Fresh Water Organisms LXXII." *The Aquiculture / Suisan Zoshoku* 27(4): 238-244.
- Office of pesticide programs (2000). Pesticide Ecotoxicity Database. Environmental Fate and Effects Division, US-EPA.
- O'Neil, M. J. (2001). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. Whitehouse Station, NJ.
- Parrish, P. R., *al.* (1978). Chronic toxicity of chlordane, trifluralin, and pentachlorophenol to sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*). EPA 600/3-78-010. U.S. Environ. Prot. Agency, EPA 600/3-78-010:1.
- Parrish, P. R., S. C. Schimmel, D. J. Hansen, J. M. Patrick, J. Forester (1976). "Chlordane : effects on several estuarine organisms." *Journal of Toxicology and Environmental Health* 1: 485-494.
- Rai, U. P., P. K. Mandal (1993). "Effects of Seasonal Ambient Temperature Variations on Acute Toxicity of Chlordane to an Air-Breathing Indian Catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch)." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51(3): 453-459.
- Randall, W. F., W. H. Dennis, M. C. Warner (1979). "Acute toxicity of dechlorinated DDT, chlordane and lindane to bluegill (*Lepomis macrochirus*) and *Daphnia magna*." *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 21: 849-854.
- Rao, T. S., M. Srinivasa Rao, S. B. S. Krishna Prasad (1975). "Median tolerance limits of some chemicals to the fresh water fish "Cyprinus-Carpio"." *Indian J. Environ. Hlth.* 17(2): 140-146.
- Ravikumar, S. S., T. R. C. Gupta (1988). Toxicity of Chlordane and Malathion to Silver Carp and Common Carp. Proceedings of the First Indian Fisheries Forum, Asian Fisheries Society, M. M. Joseph. Indian Branch, Mangalore: 281-283.
- Sanborn, J. R., R. L. Metcalf, W. N. Bruce, P. Y. Lu (1976). "The fate of chlordane and toxaphene in a terrestrial-aquatic model ecosystem." *Entomol.* 5: 533-538.

- Sanders, H. O. (1969). "Toxicity of pesticides to the crustacean *gammarus lacustris*." Tech.Pap.No.25, Bur.Sports Fish.Wildl., Fish Wildl.Serv., U.S.D.I., Washington, D.C .:18.
- Sanders, H. O. (1972). "Toxicity of some insecticides to four species of malacostracan crustaceans." Tech.Pap.No.66, Bur.Sports Fish.Wildl., Fish Wildl.Serv., U.S.D.I., Washington, D.C .:19.
- Sanders, H. O., O. B. Cope (1966). "Toxicities of several pesticides to two species of cladocerans." Trans. Am. Fish. Soc. 95: 165-169.
- Sanders, H. O., O. B. Cope (1968). "The relative toxicities of several pesticides to naiads of three species of stoneflies." Limnol. Oceanogr. 13: 112-117.
- Schoettger, R. A. (1970). "Fish-Pesticide Research Laboratory: Progress in Sport Fishery Research." U.S.Dep.Interior, Bur.Sport Fish.Wildl.Res. 106: 2-40.
- See, C. L., J. A. L. Buikema, J. J. Cairns (1974). "The Effects of Selected Toxicants on Survival of *Dugesia tigrina* (Turbellaria)." ASB (Assoc. Southeast. Biol.) Bull. 21(2): 82.
- SRC (1988). Syracuse Research Corporation calculated values.
- Tabak, H. H., S. A. Quave, C. I. Mashini, E. F. Barth (1981). "Biodegradability studies with organic priority pollutant compounds." J Water Pollut Control Fed 53(10): 1503-1518.
- Tomlin, C. D. S. (1994). The Pesticide Manual - World Compendium. Surrey, UK, British Crop Protection Council.
- US-EPA (1980). Ambient water quality criteria for chlordane. Office of Water Regulations and Standards, US Environmental Protection Agency, EPA 440/5-80-027.
- Veith, G. D., D. L. De Foe, B. V. Bergstedt (1979). "Measuring and estimating the bioconcentration factors of chemicals in fish." J. Fish. Res. Board Can. 36(9): 1040-1048.
- Verma, S. R., S. K. Bansal, A. K. Gupta, N. Pal, A. K. Tyagl, M. C. Bhatnagar, V. Kumar, R. C. Dalela (1982). "Bioassay Trials with Twenty Three Pesticides to a Fresh Water Teleost, *Saccobranchus fossilis*." Water Res. 16(5): 525-529.
- Warner, H. P., J. M. Cohen, J. C. Ireland (1987). Determination of Henry's Law Constants of Selected Priority Pollutants. Office of Science and Development, U.S. EPA, 600/D-87/229.
- Worthing, C. R., S. B. Walker (1983). Pesticide Manual. Lavenham suffolk, England, Lavenham Press LTD.



## 4-chloroaniline – n°CAS : 106-47-8

### 1. CARACTERISTIQUES

#### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>6</sub> -H <sub>6</sub> -Cl-N
Etat physique :	solide cristallin
Poids moléculaire :	127.57 g/mol
Densité :	1.169 g/cm <sup>3</sup> à 77°C (HSDB 2000)
Point de fusion :	72.5 °C (HSDB 2000)
Point d'ébullition :	232 °C (HSDB 2000)
Pression de vapeur :	3.6 Pa à 26°C (HSDB 2000) 2 Pa à 20/25°C (BUA 1993)
Solubilité dans l'eau :	3.9 g/L à 25°C (HSDB 2000)
Log Kow :	1.83 (HSDB 2000)
Constante de Henry :	0.07/0,1* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (BUA 1993) 0.0395* et 1.0840* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (cité dans MacKay et al. 2000)
pKa :	3.982 (HSDB 2000)
Koc :	72.53 (PCKOCWIN v 1.66 cité dans US-EPA et Syracuse Research Corporation 2004)

\*valeur calculée

Compte-tenu de ses propriétés physico-chimiques (solubilité de 3,9 g/L à 25°C et constante de Henry de 0.04 à 1.1 Pa.m<sup>3</sup>/mol) la 4-chloroaniline est considérée comme soluble et faiblement volatile.

#### 1.2 Persistance

Selon les analyses de Lathaniatis (1981) qui sont conformes à l'OECD-Guideline A-79.74D (25 C; pH3, pH7, pH9), la 4-chloroaniline ne subirait pas d'hydrolyse (rapport BUA 1993).

Des demi-vies de photolyse dans l'eau de 1 à 7,5 heures sont citées dans le rapport BUA (1993).

La 4-chloroaniline est considérée comme intrinsèquement biodégradable sous des conditions aérobies, mais une grande partie de son élimination est due à sa phototransformation (BUA 1993) : MacKay et al. 2000, rapportent des temps de demi-vie dans les eaux douces de surface de 0.3 à 3 jours.

#### 1.3 Bioaccumulation

La bioaccumulation de la 4-chloroaniline est limitée : des BCF de 4 à 240 pour les poissons et de 240 et 260 pour les algues (valeurs basées sur le poids humide) sont cités dans le rapport BUA 1993.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>50</sub> (96 h) histologie	2.2	4	Adolphi 1984
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (72 h) E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> (72 h)	2.2 6.3	2	Kühn et Pattard 1990
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	2.4	4	Geyer 1984
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	4.1	2	Maas-Diepeveen et Van Leeuwen 1986
	<i>Chlorella zoofingiensis</i>	EC <sub>50</sub> (48 h) physiologie	91.47	4	Weber et al. 1984
Crustacés	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.05	2	Maas-Diepeveen et Van Leeuwen 1986
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	0.06	4	Rott 1981
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.105	3	Lee et al. 1993
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.31	1	Kühn et al. 1989a
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	1.35	4	Hattori et al. 1984
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	13	3	Kühn et al. 1989b
Poissons	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	2.4	2	Julin et Sanders 1978
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	12	2	Julin et Sanders 1978
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	14	2	Julin et Sanders 1978
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	16.3	2	Hodson 1985
	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	23	2	Julin et Sanders 1978
	<i>Leuciscus idus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	23	2	Knie et al. 1983
	<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (14 j.)	26	3	Hermens et al. 1984
	<i>Oryzias latipes</i>	LC <sub>50</sub> (48 h) LC <sub>50</sub> (24 h)	28 43	2	Tonogai et al. 1982
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h) EC <sub>50</sub> (96 h)	30.6 28.4	1	Geiger et al. 1988
	<i>Brachydanio rerio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	31.25	2	Lee et al. 1993
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	32.5	2	Broderius et al. 1995
	<i>Oryzias latipes</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	37.7	2	Holcombe 1995
	<i>Brachydanio rerio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	44	2	Burkhardt-Holm et al. 1999
	<i>Brachydanio rerio</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	46	2	Spieser 1981

### Algues :

Les données du test de Adolphi 1984 sur l'histologie de *Scenedesmus subspicatus* n'ont pas été vérifiées (le critère d'effet n'est pas considéré comme pertinent) et la EC<sub>50</sub> (96 h) de 2.2 mg/L n'est donnée qu'à titre indicatif.

L'essai de Geyer 1984; Rott 1981 a été réalisé selon les recommandations de « l'UBA – Guideline » (6 mai 1982). Il est cité dans le rapport BUA 1993. L'effet mesuré était l'inhibition de la prolifération cellulaire.

*Compte tenu de l'impossibilité de vérifier les données, la EC<sub>50</sub> (96 h) obtenue à 0.06 mg/L n'est donnée qu'à titre indicatif.*

Kühn et Pattard 1990 ont réalisé un essai sur algues vertes selon une méthode normalisée DIN 38 412, Part 9. L'espèce *Scenedesmus subspicatus*, de souche 86.81 SAG a été utilisée. La densité initiale était de 10<sup>4</sup> cellules/mL, et il a été vérifié que les algues étaient en phase de croissance exponentielle. Le protocole pour la préparation du milieu d'essai est présenté et apparaît satisfaisant. Le pH initial était de 8.0 ± 0.3, et la température a été maintenue à 24 ± 1 °C. Une illumination constante de 17 W/m<sup>2</sup> (environ 12000 lux) a été fournie par des tubes fluorescents. Des protections ont été prises pour éviter toute contamination microbologique (stérilisation du milieu et de la verrerie). Huit concentrations comprises entre 0.4 et 50 mg/L ont été testées. Des témoins ont été réalisés. La biomasse a été déterminée par mesure de la densité optique, au début du test puis après 24, 48 et 96h. Après 72h, le pH a augmenté de 1,3 unités. Il a été vérifié que la densité moyenne en cellules des témoins était plus de 16 fois supérieure à la densité initiale. Deux paramètres ont été étudiés : le taux de croissance (r) et la biomasse, (b). Les EC<sub>50</sub> sont exprimées en fonction des concentrations nominales. Les E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> (effet sur la biomasse) déterminées à différents temps sont :

- E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> à 48 h = 8 mg/L
- E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> à 72 h = 2.2 mg/L
- E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> à 96 h = 2.8 mg/L

La E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> (effet sur le taux de croissance) à 72h a été déterminée à 6.3 mg/L.

*Le protocole expérimental est bien décrit et est conforme à une norme DIN. La luminosité apparaît un peu forte par rapport au recommandations de la ligne directrice 201 de l'OCDE ou de la norme ISO NF EN 28692 (6400 à 9600 lux). De même la variation de pH au cours de l'essai (1.3 unité) dépasse la variabilité limite recommandée par l'OCDE (1 unité), mais reste inférieure à celle préconisée par l'ISO (1.5 unités). Compte tenu de ces remarques et de l'absence de suivi analytique, les valeurs obtenues à 72h sont considérées comme valides avec restrictions.*

L'essai de Maas-Diepeveen et Van Leeuwen 1986 sur *Chlorella pyrenoidosa* a été réalisé selon la ligne directrice 201 de l'OECD 1984, avec quelques modifications (Van Leeuwen et al. 1985) : la température était de 20 ± 1°C et la concentration cellulaire initiale dans la solution d'essai (100ml) était de 10<sup>8</sup> cellules/L. Les essais ont été réalisés en triplicata. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen et Maas 1985. La pureté de la substance était >99%. Les solutions mères ont été préparées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO, pureté 99%). Un agent solubilisant, le 2-propanol, a été utilisé. Le critère d'effet était la biomasse. La EC<sub>50</sub> (96 h) a été déterminée à 4.1 (3.8 – 4.3) mg/L.

*La valeur des concentrations d'essai utilisées, le pH et la concentration cellulaire dans les cultures témoins à la fin du test ne sont pas indiquées. De plus, la concentration en DMSO n'est pas donnée et il n'est pas précisé s'il y a eu des témoins avec DMSO et avec le solvant. Cependant, l'essai a suivi la ligne directrice 201 de l'OCDE. Il est donc considéré valide avec restrictions.*

Les données du test de Weber et al. 1984, sur la physiologie de *Chlorella zoofingiensis* n'ont pas été vérifiées (critère d'effet jugé non pertinent) et la EC<sub>50</sub> (48 h) de 91.5 mg/L n'est donnée qu'à titre indicatif.

#### Micro-crustacés :

Hattori et al. 1984 ont déterminé une EC<sub>50</sub> (24 h) de 1.35 mg/L.

*Cette valeur a pu être retrouvée dans la publication originale (en japonais) mais les détails du protocole expérimental n'ont pas pu être vérifiés. Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ce résultat qui n'est donné qu'à titre indicatif.*

Kühn et al. 1989a ont testé la toxicité du 4-chloroaniline sur *Daphnia magna* (souche Straus), selon la norme DIN 38412, part II 11 (test court terme sur daphnies, Institut Allemand de Normalisation, 1982). Les daphnies utilisées étaient âgées de 6 à 24 heures, elles n'ont pas été nourries durant la durée du test. L'essai a été réalisé dans un incubateur à 20 °C et à pH initial de  $8 \pm 0.2$ . Les concentrations testées ont été choisies de manière à avoir 3 à 4 concentrations induisant des pourcentages d'effet compris entre 0 et 100% et au moins une concentration induisant un pourcentage d'effet inférieur à 50%. Deux réplicats par concentration testée ont été réalisés. Les essais ont été menés dans des béchers de 50 mL contenant chacun 20 mL de milieu et 10 individus. Il s'agit d'un essai statique (pas de renouvellement de milieu). Le pH et la concentration en oxygène dissous ont été vérifiés en fin d'essai pour être dans des limites acceptables : pH non inférieur à 7 et concentration d'oxygène supérieure à 4 mg/L. Il a également été vérifié que la mortalité n'excédait pas 10% parmi les témoins. La concentration nominale induisant 50% d'immobilisation (EC<sub>50</sub>) au bout de 48 heures a été calculée à 0.31 (0.12 - 0.78) mg/L ;

*Les conditions expérimentales sont bien renseignées. Les concentrations n'ont pas été mesurées, mais la substance n'est pas considérée comme volatile et est stable. Cet essai est donc jugé valide.*

Le test de Kühn et al. 1989b, est extrait d'une étude chronique (cf. partie 2.2) réalisée sur 73 substances selon une procédure de test normalisée. Ce test de 24h a été réalisé sur des daphnies âgées de moins de 24h et dans des conditions statiques. La gamme des concentrations testées allait de 0,1 à 316 µg/L. La EC<sub>50</sub> (24 h) = 13 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*La EC<sub>50</sub> (24 h) n'est pas comprise dans l'intervalle des concentrations testées. Ce résultat n'est donc pas considéré valide.*

L'essai de Lee et al. 1993 sur *Daphnia magna* a été réalisé dans le cadre d'une étude des effets du matériel humique dissous sur la toxicité aiguë de substances chimiques organiques. Les conditions du milieu étaient statiques, la température de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , une photopériode de 16h, et 10 daphnies âgés de moins de 24h ont été utilisées (pour 100 ml de solution) par concentration d'essai. Seuls les résultats graphiques ont été publiés. Au bout de 48h, la EC<sub>50</sub> a été déterminée graphiquement à environ 0.105 mg/L (0.09 – 0.12 mg/L).

*L'essai est très peu renseigné : en particulier, aucune informations sur le nombre et les valeurs des concentrations d'essai de la substance, sur l'utilisation de témoins et sur la concentration en oxygène dissous ne sont fournies. Ce résultat n'est donné qu'à titre indicatif.*

L'essai de Maas-Diepeveen et Van Leeuwen 1986 sur *Daphnia magna* (<24 h) a été réalisé selon une procédure NEN<sup>31</sup> et la ligne directrice 202 de l'OECD 1981, avec quelques modifications

---

<sup>31</sup> NEN 6501, 1980. Determination of acute toxicity with *Daphnia magna*. Dutch Standardization Organization, rijswijk, the Netherlands.

(Van Leeuwen et al. 1985). Les solutions d'essai étaient renouvelées tous les jours et les daphnies étaient nourries avec  $10^8$  cellules/L de *Chlorella pyrenoidosa*. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen et Maas 1985. La pureté de la substance était >99%. Les solutions mères ont été préparées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO, pureté 99%). Un agent solubilisant, le 2-propanol, a été utilisé. La  $LC_{50}$  (48 h) a été déterminée à 0,05 (0,04 – 0,06) mg/L.

*La ligne directrice 202 de l'OCDE a été suivie. La mortalité dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas indiquées. De plus, la concentration en DMSO n'est pas donnée et il n'est pas précisé si des témoins ont été réalisés pour le DMSO et le solvant. Le résultat obtenu est considéré comme valide sous ces restrictions.*

L'essai de Rott 1981 a été réalisé selon les recommandations du guide 202 de l'OCDE (1979). Il est cité dans le rapport BUA 1993.

*Compte tenu de l'impossibilité de vérifier les données, la  $EC_{50}$  (24 h) obtenue à 0.06 (0.03 – 0.14) mg/L n'est donnée qu'à titre indicatif.*

#### Poissons :

Le test de Broderius et al. 1995 a été réalisé en flot continu à 25°C avec un suivi analytique quotidien des concentrations d'essai. 20 juvéniles de *Pimephales promelas* âgés de 26 à 34 jours ont été testés par concentration d'essai (4 ou 5 en duplicata). Deux contrôles ont également été réalisés. La dureté de l'eau, l'alcalinité, le pH et la température étaient approximativement de 45 mg/L de  $CaCO_3$ , 42 mg/L de  $CaCO_3$ , 7,8 et 25°C respectivement. Le degré de pureté de la substance était  $\geq 95\%$ . La mortalité a été enregistrée tous les jours. Au bout de 96h, une  $LC_{50}$  de 32.5 mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées en 4-chloroaniline.

*Il manque un certain nombre d'informations, notamment sur le nombre et les valeurs des concentrations testées et sur la concentration en oxygène dissous. Aucune indication sur la mortalité des témoins n'est fournie. Cet essai est considéré valide avec restrictions.*

Le test aigu de Burkhardt-Holm et al. 1999 fait parti d'une étude sur la toxicité de la 4-chloroaniline chez des larves de *Brachydanio rerio* (cf. partie 2.2). Pour déterminer la toxicité aiguë, des groupes de 10 œufs fécondés en triplicata ont été exposés à cinq concentrations d'essai (0.05, 0.5, 5, 25 et 50 mg/L) pendant 96 h. Un groupe témoin a également été réalisé. La température de l'eau était de 27.5°C. Les  $LC_{50}$  ont été déterminées à partir des concentrations nominales. Pendant les 96h d'exposition, une mortalité de 7% est observée dans le groupe témoin. La  $LC_{50}$  (96 h) a été déterminée à 44 mg/L. Ce test montre également une augmentation des malformations larvaires et une diminution du taux d'éclosion suite à 96 h d'exposition à la 4-chloroaniline pour des concentrations  $\geq 5$  mg/L.

*Le protocole et les effets observés ne s'appuient pas sur une norme (ni l'OCDE 203 ni l'OCDE 210 ne peuvent s'appliquer). Cet essai est considéré comme valide sous restrictions.*

L'essai de Geiger et al. 1988 sur *Pimephales promelas* (34 jours, 19.7 mm et 0.106 g) a été réalisé dans des conditions dynamiques (dureté :  $44.3 \pm 0.29$  mg/L  $CaCO_3$ , alcalinité :  $43.8 \pm 0.65$  mg/L  $CaCO_3$ , pH :  $7.7 \pm 0.02$ , température :  $24.5 \pm 0.29$  °C,  $O_2$  dissous :  $6.7 \pm 0.2$  mg/L). Les poissons n'ont pas été nourris 24 h avant et pendant le test. 20 poissons ont été testés sur 5 concentrations d'essai (valeurs nominales : 6.25, 9.62, 14.8, 22.7 et 34.9 mg/L) et un témoin. Un suivi analytique des concentrations d'essai a été réalisé indiquant de très faibles variations par rapport aux concentrations nominales. La pureté de la 4-chloroaniline était de 98%. La mortalité dans le groupe témoin était nulle. La  $LC_{50}$  (96 h) et la  $EC_{50}$ (96 h) (effets sur le

comportement et la nage des poissons) ont été déterminées à 30.6 mg/L et à 28.4 mg/L respectivement.

*Cet essai est bien renseigné et conforme aux lignes directrices 203 de l'OCDE. Il est considéré valide.*

L'essai de toxicité prolongée de Hermens et al. 1984 (cité dans Maas-Diepeveen et Van Leeuwen 1986) sur *Poecilia reticulata* (âgé de 2 à 3 mois) a été réalisé selon la méthode décrite par Konemann 1981 c'est-à-dire en conditions semi-statiques : le milieu d'essai (dureté de l'eau : 25 mg/L CaCO<sub>3</sub>; température : 22 ± 1 C ; O<sub>2</sub> dissous >5 mg/L) était renouvelé quotidiennement 30 min après l'alimentation des poissons. 8 individus ont été testés par concentration d'essai et les concentrations utilisées appartenaient à une série géométrique (facteur de 1.8). Un agent solubilisant, le 2-propanol, a été utilisé. Il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations d'essai. Une LC<sub>50</sub> (14 j.) = 26 mg/L a été déterminée.

*L'essai est peu renseigné et ne suit aucune méthode normalisée. L'âge des poissons est élevé. La mortalité dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas indiquées. De plus, il n'est pas précisé si des témoins ont été réalisés avec le solvant. Cet essai n'est pas valide.*

L'essai de Hodson 1985 sur *Oncorhynchus mykiss* est cité dans le rapport BUA 1993. La méthode utilisée est celle décrite dans Hodson et al. 1984 : conditions dynamiques, température de 14.1 à 16.5 °C, pH de 7.6 à 8.19, alcalinité de 86 mg/L CaCO<sub>3</sub> et O<sub>2</sub> dissous de 5.6 à 9.4 mg/L. 10 poissons (1.2 – 3.8 g ; 4.6 – 6.4 cm) ont été testés pour chacune des 6 concentrations d'essai, en 3 réplicats. La LC<sub>50</sub> (96 h) = 16.3 mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

*Cet essai est bien renseigné et apparaît globalement satisfaisant. Des précautions particulières (renouvellement continu du milieu et suivi analytique des concentrations de l'essai) ont été prises afin de maintenir constantes les concentrations de l'essai et de connaître précisément la concentration effective. Cependant, la concentration en O<sub>2</sub> dissous est descendu légèrement en deçà de 60 % de la valeur de saturation en air soit 5.9 mg/l. Sous cette restriction, cet essai est considéré valide.*

L'essai de Holcombe 1995 sur *Oryzias latipes* a été conduit en récipients fermés et en flot continu (25 mL/min). La méthode utilisée suit les recommandations de « American Society for Testing and Materials 1980 ». Le milieu d'essai a été confectionné à partir d'eau naturelle filtrée. Un suivi analytique a été réalisé : la dureté totale de l'eau a été déterminée à 45.8 mg/L CaCO<sub>3</sub>, l'alcalinité à 45.9 mg CaCO<sub>3</sub>/L et la concentration en oxygène dissous à 6.8 ± 0.7 mg/L. Au cours de l'essai, le pH s'est échelonné entre 7.31 et 8.85, la température s'est maintenue à 25 ± 1°C. Une lumière artificielle (photopériode de 16h) a été utilisée. La pureté de la substance était de 99.9%. Les organismes testés étaient âgés de 28 à 43 jours ( masses comprises entre 18 et 71 mg) et n'ont pas été nourris 24 h avant et pendant l'essai. Des groupes de 20 individus ont été exposés à 5 concentrations d'essai (facteur de dilution = 0.5) : 8.29, 15.1, 29, 49.1 et 94.7 mg/L. Chaque essai a été dupliqué, soit dix individus par réplicat. Un groupe témoin a également été réalisé avec le même nombre d'individus. Aucune mortalité n'est apparue dans ce lot. Au bout de 96 h, la LC<sub>50</sub> a été déterminée à 37.7 (29 – 49.1) mg/L.

*L'essai est bien renseigné, et les informations fournies apparaissent satisfaisantes. Cet essai est considéré valide.*

Les différents essais de Julin et Sanders 1978 sont cités dans le rapport BUA 1993 et les résultats obtenus ont été vérifiés dans la publication originale. Ces essais de toxicité aiguë ont été réalisés sur de jeunes poissons (0.5 à 2.2 g), en milieu statique (eau reconstituée ; T = 22 °C, pH de 7.2, l'alcalinité et la dureté de l'eau étaient de 35 mg CaCO<sub>3</sub>/L et de 40 mg CaCO<sub>3</sub>/L respectivement). Au bout de 96 h, les LC<sub>50</sub> ont été déterminées pour 4 espèces de poissons :

- *Lepomis macrochirus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 2.4 (1.8 – 3.2) mg/L
- *Pimephales promelas* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 12 (7 – 18) mg/L
- *Oncorhynchus mykiss* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 14 (11 – 16) mg/L
- *Ictalurus punctatus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 23 (18 – 29) mg/L

*Les essais sont très peu renseignés et certaines informations cruciales sont manquantes telles que l'utilisation de groupe témoin, la concentration en oxygène dissous, le nombre de poissons testés et les valeurs des concentrations testées. Ces résultats sont néanmoins proches de ceux obtenus par d'autres auteurs. Ces résultats sont donc considéré valides avec restrictions.*

L'essai de Knie et al. 1983 sur *Leuciscus idus* est cité dans le rapport BUA 1993 : il a été réalisé en milieu statique, selon la procédure DIN 38412 Part 15, à une température de 20 ± 1°C et un pH de 8 ± 0.5. Le résultat obtenu (LC<sub>50</sub> (48 h) = 23 mg/L) a été retrouvé dans la publication originale.

*Les détails du protocole n'ont pas été vérifiés en détail dans la publication originale (en allemand). Cependant, le test a été mené selon une méthode normalisée. Ce résultat est donc considéré comme valide avec restrictions.*

L'essai de Lee et al. 1993 sur *Brachydanio rerio* a été réalisé dans le cadre d'une étude des effets du matériel humique dissous sur la toxicité aiguë de substances chimiques organiques. La teneur en matière organique ne semble pas avoir eu d'impact sur les résultats. Les conditions du milieu étaient statiques (température de 21 ± 1°C ; photopériode de 16h) et 6 poissons âgés de 2 mois (longueur totale : 2 – 3 cm) ont été utilisés par concentration d'essai. Seuls des résultats graphiques sont publiés. Au bout de 96 h, la LC<sub>50</sub> a été déterminée graphiquement à environ 31.25 (28.5 – 34) mg/L.

*L'essai est très peu renseigné : en particulier, aucune information n'est fournie sur le nombre et les valeurs des concentrations d'essai de la substance, sur les groupes témoins et sur la concentration en oxygène dissous. L'âge des poissons est élevé. Plusieurs tests ont été faits avec de la matière organique dissoute, mais cela ne semble pas avoir eu d'effet significatif sur les résultats. Ce résultat est proche de ceux obtenus par les autres auteurs. Ce résultat est donc considéré valide avec restrictions.*

L'essai de Spieser 1981 sur *Brachydanio rerio* est cité dans le rapport BUA 1993. Il a été réalisé en milieu statique selon « UBA-Procédure Recommandation 1979/1980 » qui est comparable au guide 203 de l'OCDE (BUA 1993). La température, le pH et la dureté de l'eau étaient de 23 ± 1°C, 7.8 ± 0.1 et 200 mg/L de CaCO<sub>3</sub> respectivement.

*Il n'a pas été possible de vérifier le détail du protocole expérimental dans la publication originale. Néanmoins cet essai a été réalisé selon une norme et a été retenu par le BUA. Il est donc considéré valide avec restrictions.*

L'essai de Tonogai et al. 1982 a été réalisé sur *Oryzias latipes* (environ 2 cm de longueur pour 0.2 g.) gardé pendant 10 jours dans une eau de qualité identique à celle utilisée durant l'essai. Le protocole expérimental suit les recommandations de « Japanese Industrial Standards Committee, 1971 » : milieu statique et 10 poissons par concentration d'essai dans 2 L d'eau déionisée à 25°C. Il a été déterminé une LC<sub>50</sub> (24 h) de 43 mg/l et une LC<sub>50</sub> (48 h) de 28 mg/L.

*L'essai est très peu détaillé mais a été effectué selon une norme japonaise. Le protocole de l'essai diffère de celui recommandé par l'OCDE et notamment sur la durée du test (96h minimum sont recommandées par l'OCDE 203 pour les tests aigus sur poissons). Cet essai est considéré valide avec restrictions.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>10</sub> croissance EC <sub>10</sub> fluorescence	0.02 0.38	3	Schmidt et Schnabl 1989
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	E <sub>r</sub> C <sub>10</sub> (72 h)	1	2	Kühn et Pattard 1990
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>10</sub> (96 h) histologie	1.13	4	Adolphi 1984
	<i>Chlorella zojingiensis</i>	NOEC (48 h) LOEC (48 h) physiologie	6.38 12.76	4	Weber et al. 1984
Crustacés	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21 j.)	0.01	2	Kühn et al. 1989b
	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (14 j.)	0.0427	4	Hattori et al. 1984
Poissons	<i>Brachydanio rerio</i>	NOEC (133 j.)	<0.04 (croissance et nombre d'œufs)  0.2 (fertilité)	2	Bresch et al. 1990
	<i>Brachydanio rerio</i>	LOEC (10 et 31j.) Altération des hépatocytes  LOEC (31 j.) Altération des cellules branchiales	0.05  0.5	3	Burkhardt-Holm et al. 1999
	<i>Brachydanio rerio</i>	NOEC (154 j.) fertilité	0.2	3	Bresch et al. 1990
	<i>Brachydanio rerio</i> et <i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEC (56 j.) LOEC (56 j.)	0.2 1	2	Bresch 1991
	<i>Oryzias latipes</i>	NOEC (28 j.) croissance	<2.25	3	Holcombe 1995

### Algues :

La EC<sub>10</sub> (96 h) de 1.13 mg/L du test de Adolphi 1984 sur l'histologie de *Scenedesmus* (critère d'effet considéré comme non pertinent) n'est donnée qu'à titre indicatif.

Le test de Kühn et Pattard 1990 est bien renseigné (cf. partie 2.1) et applique la norme allemande DIN 38 412, Part 9. La gamme des concentrations testées allait de 0.4 à 50 mg/L. Les E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> (effet sur le taux de croissance) à différents temps ont été déterminées :

- E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> à 48 h = 1.4 mg/L
- E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> à 72 h = 1 mg/L

Le résultat de l'E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> obtenue à 72 h est considérée comme valide avec restrictions (cf. partie 2.1).

Schmidt et Schnabl 1989 ont testé l'influence de la 4-chloroaniline sur le taux de croissance (EC<sub>10</sub> = 0.02 mg/L) et sur la diminution de fluorescence (EC<sub>10</sub> = 0.38 mg/L). Ces résultats sont cités dans le rapport BUA 1993 qui indique un temps d'exposition de 168h.

*Les résultats ont pu être retrouvés dans la publication originale (en allemand) mais le détail du protocole n'a pas été vérifié. La durée du test paraît trop longue pour pouvoir garantir le fait que les algues étaient toujours en phase de croissance exponentielle. Ce résultat ne sera pas retenu.*

La NOEC (48 h) de 6.38 mg/L du test de Weber et al. 1984, sur la physiologie de *Chlorella zoofingensis* (critère considéré comme non pertinent) n'est donnée qu'à titre indicatif.

#### Micro-crustacés :

Hattori et al. 1984 ont déterminé une NOEC = 0.0427 mg/L.

*Cette valeur a pu être retrouvée dans la publication originale (en japonais) mais les détails du protocole expérimental n'ont pas été vérifiés. Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ce résultat qui n'est donné qu'à titre indicatif.*

Le test de Kühn et al. 1989b est extrait d'une étude réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée. Ce test semi-statique est bien renseigné (système fermé,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 8 \pm 0.2$ , dureté de l'eau = 2.5 mmol  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). Le milieu était renouvelé trois fois par semaine. Le pH et l' $\text{O}_2$  dissous étaient contrôlés régulièrement. Les effets sur la reproduction ont été suivis. La gamme des concentrations testées allait de 0.0001 à 0.316 mg/L et 20 daphnies ont été testées par concentration d'essai. Les résultats sont exprimés en terme de concentrations nominales, mais un suivi analytique a été réalisé montrant qu'il n'y a pas eu de perte importante de la substance.

*Selon la ligne directrice 211 de l'OCDE, la température du milieu d'essai devrait être comprise entre 18 et 22°C. Le test est donc considéré valide sous cette restriction.*

#### Poissons :

Bresch et al. 1990 ont étudié à long terme les effets chroniques de la 4-chloroaniline sur la croissance et la reproduction de trois générations de *Brachydanio rerio* (F0, F1 et F2). Trois effets ont été mesurés : le nombre d'œufs émis, la fertilité et la croissance des poissons. L'essai a été réalisé en flot continu avec un suivi régulier (une fois par semaine) des caractéristiques de l'eau : la concentration en  $\text{O}_2$  dissous n'est pas descendue en dessous de 65 % de la valeur de saturation, la température était comprise entre 25.8 et 26.4°C et le pH entre 7.2 et 7.4. Les œufs issus de la population mère F0 âgée de 6 mois et exposée à la 4-chloroaniline pendant 22 semaines, ont été placés dans un aquarium de 10 litres. Après éclosion, les larves ont été nourries 3 fois par jour. Au bout de 6 semaines, les poissons F1 ont été placés dans des aquariums de 35 litres. En vu d'obtenir la génération F2, des groupes de poissons géniteurs F1 ont ensuite été choisis aléatoirement pour être placés dans des enceintes de frai et ont été exposés à la 4-chloroaniline pendant 32 semaines. Pour chaque effet trois concentrations ont été testées : 0.04, 0.2 et 1 mg/L. La solution de la substance d'essai était remplacée une à deux fois par semaine et les débits du flot continu vérifiés au moins deux fois par semaine. Pour le nombre d'œufs émis et pour la fertilité il a été déterminé respectivement une NOEC < 0.04mg/L et égale à 0.2 mg/L et ce pour les deux générations F1 et F2. Les poissons exposés à des concentrations en 4-chloroaniline de 0.04 et 0.2 mg/L pendant 19 et 32 semaines ont présentés un taux de croissance significativement différent de celui des témoins.

*Il n'y a pas de norme de référence pour cette étude qui porte sur plusieurs générations de poissons. Elle apporte néanmoins une information intéressante sur les effets à long terme de la substance. Les informations fournies sur le protocole expérimental apparaissent satisfaisantes mais seules 3 concentrations différentes ont été testées. Les NOEC obtenues pour la croissance et pour le nombre d'œufs émis ne sont pas comprises dans l'intervalle des concentrations testées et ne sont donc pas exploitables. La valeur pour la fertilité est considérée valide avec restrictions.*

L'essai de Bresch 1991 sur la croissance des juvéniles a été réalisé en flot continu sur deux espèces de poissons, *Brachydanio rerio* et *Salmo gairdneri*. La qualité de l'eau a été vérifiée pendant la durée de l'essai. Trois concentrations ont été testées : 0.04, 0.2 et 1 mg/L. Les concentrations de la substance d'essai étaient vérifiées une fois par semaine. Celles-ci ne se sont pas écartées de plus de 20% des valeurs nominales. A partir de 15 jours d'exposition et jusqu'à 56 jours, la NOEC et la LOEC ont été déterminées pour les deux espèces de poissons à 0.2 et 1 mg/L respectivement.

*Les informations fournies sur le protocole expérimental apparaissent satisfaisantes. Cependant, il est recommandé de tester au moins 5 concentrations d'essai. Cet essai est jugé valide sous cette restriction.*

L'essai chronique de Holcombe 1995 sur *Oryzias latipes* a été conduit dans les mêmes conditions que l'essai aigu décrit plus haut (cf. partie 2.1) c'est-à-dire en flot continu avec un suivi analytique régulier des concentrations d'essai et différentes caractéristiques de l'eau dans les cuves d'essai. Les organismes testés étaient des larves âgées de 0 à 3 jours. Des groupes de 60 individus ont été exposés à 5 concentrations différentes s'échelonnant de 2.25 à 31.3 mg/L, chaque concentration disposant d'un réplicat. Un groupe témoin a également été réalisé. Pendant les 14 premiers jours et du lundi au vendredi, les organismes ont été nourris 2 fois par jour avec des crevettes vivantes et une fois par jour avec de la nourriture déshydratée. Les deux dernières semaines, ils ont été nourris 3 fois par jour avec des crevettes vivantes, toujours du lundi au vendredi. A la fin de l'essai, les individus ont été pesés et le pourcentage de mortalité obtenu dans le groupe témoin était de 2.5%. Un effet significatif sur la croissance des juvéniles a été observé pour la plus faible concentration de la substance d'essai testée. Une NOEC (28 j.) < 2.25 mg/L a donc été définie.

*Dans l'ensemble, les informations fournies sur le protocole expérimental apparaissent satisfaisantes. Mais la NOEC n'est pas comprise dans l'intervalle des concentrations testées, et n'est donc pas pertinente.*

L'étude de Burkhardt-Holm et al. 1999 renseigne sur la toxicité cytologique de la 4-chloroaniline chez des larves de *Brachydanio rerio*, au niveau du foie et des branchies. Cinq concentrations d'essai ont été testées (0.05, 0.5, 5, 25 et 50 mg/L) en triplicata accompagnées d'un groupe témoin. Chaque réplicat contenait 15 œufs. Ils ont été exposés aux solutions d'essai pendant 10 et 31 jours ( $T = 27.5^{\circ}\text{C}$ ) et un renouvellement journalier des solutions était effectué. Les LOEC ont été déterminées à partir des concentrations nominales. L'altération de la structure cytologique des branchies (cellules épithéliales et érythrocytes) a été observée au bout de 31 jours d'exposition pour des concentrations  $\geq 0.5$  mg/L. L'altération des cellules hépatiques a été observée au bout de 10 jours pour des concentrations  $\geq 0.05$  mg/L. Cette étude montre également une plus grande susceptibilité cellulaire des jeunes stades de vies par rapport aux adultes et une certaine capacité de rétablissement au bout de 14 jours suite à une exposition de 31 jours.

*Ces résultats, sur des critères d'effets cytologiques, ne sont donnés qu'à titre indicatif. Ils ne sont pas considérés comme pertinents pour la détermination d'une PNEC aqua.*

### **3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>**

On dispose de résultats d'essais chroniques valides pour trois niveaux trophiques différents. Le résultat le plus faible a été obtenu sur *Daphnia magna*, avec une valeur de NOEC sur 21 jours égale à 0.01 mg/L. Les micro-crustacés représentent par ailleurs le groupe le plus sensible pour la toxicité aiguë. La PNEC<sub>aqua</sub> sera donc déterminée conformément à la Table 16 du TGD (E.C. 2003), en appliquant un facteur d'extrapolation de 10 sur cette NOEC : PNEC<sub>aqua</sub> = 0.01/10 mg/L, soit :

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 1 \mu\text{g/L}$$

#### 4. BIBLIOGRAPHIE

Adolphi, H. (1984). "Überprüfung der Durchführbarkeit von Prüfungsvorschriften und der Aussagekraft der Stufe 1 und 2 ChemG." Umweltforschungsplan des Bundesministers des Innern, Forschungsbericht 106 04 011/03 (OECDG Data File).

American Society for Testing and Materials, A. (1980). Standard practice for conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates, and amphibians. Philadelphia, PA,.

Bresch, H. (1991). "Early Life-Stage Test in Zebrafish Versus a Growth Test in Rainbow Trout to Evaluate Toxic Effects." Bull. Environ. Contam. Toxicol. 46: 641-648.

Bresch, H., H. Beck, D. Ehlermann, H. Schlaszus and M. Urbaneck (1990). "A Long-Term Toxicity Test Comprising Reproduction and Growth of Zebrafish with 4-Chloroaniline." Arch. Environ. Contam. Toxicol. 19(3): 419-427.

Broderius, S. J., M. D. Kahl and M. D. Hoglund (1995). "Use of Joint Toxic Response to Define the Primary Mode of Toxic Action for Diverse Industrial Organic Chemicals." Environ. Toxicol. Chem. 14(9): 1591-1605.

BUA (1993). p-chloroaniline. BUA Report 153, GDCh-Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance.

Burkhardt-Holm, P., Y. Oulmi, A. Schroeder, V. Storch and T. Braunbeck (1999). "Toxicity of 4-Chloroaniline in Early Life Stages of Zebrafish (*Danio rerio*): II. Cytopathology and Regeneration of Liver and Gills After Prolonged Exposure to Waterborne 4-Chloroaniline." Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37(1): 85-102.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

Geiger, D. L., D. J. Call and L. T. Brooke (1988). Acute toxicities of organic chemicals to Fathead minnows (*Pimephales promelas*). Center for Lake Superior Environmental Studies, University of Wisconsin-Superior.

Geyer, H. (1984). Algentest. Korte, F. & Freitag, D. (Hrsg.) Überprüfung der Durchführbarkeit von Prüfungsvorschriften und der Aussagekraft der Stufe I und II des E. Chem. G. Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung München mbH. Neuherberg: 80-87.

Hattori, M., K. Senoo, S. Harada, Y. Ishizu and M. Goto (1984). "The Daphnia Reproduction Test of Some Environmental Chemicals." Aquat. Ecol. Chem. (Seitai Kagaku) 6(4): 23-27.

Hermens, J., P. Leeuwangh and A. Musch (1984). "Quantitative Structure-Activity Relationships and Mixture Toxicity Studies of Chloro- and Alkylanilines at an Acute Lethal Toxicity Level to the Guppy (*Poecilia reticulata*)." Ecotoxicology and Environmental Safety 8: 388-394.

Hodson, P. V. (1985). "A comparison of the acute toxicity of chemicals to fish, rats and mice." J. Appl. Toxicol. 5: 220-226.

- Hodson, P. V., D. G. Dixon and K. L. E. Kaiser (1984). "Measurement of median lethal dose as a rapid indication of contaminant toxicity to fish." Environ. Toxicol. Chem. 3: 243-254.
- Holcombe, G. W. (1995). "Acute and Long-Term effects of nine chemicals on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*)." Arch Environ Contam Toxicol 28: 287-297.
- HSDB (2000). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>
- Julin, A. M. and H. O. Sanders (1978). "Toxicity of the IGR, diflubenzuron, to freshwater invertebrates and fishes." Mosq. News 38: 256-259.
- Knie, J., A. Hälke, I. Juhnke and W. Schiller (1983). "Results of Studies on Chemical Substances with Four Biotests. (Ergebnisse der Untersuchungen von chemischen Stoffen mit vier Biotests)." Deutsches gewässerkundliche Mitteilungen 3: 77-79.
- Konemann, H. (1981). "Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies. I. Relationship for 50 industrial pollutants." Toxicology 19: 209-221.
- Kühn, R. and M. Pattard (1990). "Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test." Wat. Res. 24(1): 31-38.
- Kühn, R., M. Pattard, K. D. Pernak and A. Winter (1989a). "Results of the harmful effects of selected water pollutants (Anilines, phenols, aliphatic compounds) to *Daphnia Magna*." Water Res. 23(4): 495-499.
- Kühn, R., M. Pattard, K.-D. Pernak and A. Winter (1989b). "Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test (OECDG Data File)." Wat. Res. 23(4): 501-510.
- Lee, S. K., D. Freitag, C. Steinberg, A. Kettrup and Y. H. Kim (1993). "Effects of Dissolved Humic Materials on Acute Toxicity of Some Organic Chemicals to Aquatic Organisms." Water Res. 27(2): 199-204.
- Maas-Diepeveen, J. L. and C. J. Van Leeuwen (1986). Aquatic toxicity of aromatic nitro compounds and anilines to several freshwater species. The Neederlands, Laboratory for Ecotoxicology, Institute for Inland Water Management and Waste Water Treatment: 25.
- MacKay, D., W. Y. Shiu and K. C. Ma (2000). Physical-chemical properties and environmental fate Handbook, Chapman & Hall.
- OECD (1981). Guidelines for testing of chemicals. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD (1984). Guidelines for testing of chemicals. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- Rott, B. (1981). Schwimmhemmung bei *Daphnia magna* Straus 1820. Korte, F. & Greim, H. (Hrsg.) Überprüfung der Durchführbarkeit von Prüfungsvorschriften und der Aussagekraft der Grundprüfung des E. Chem. G. Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF). München: 252-254.
- Schmidt, C. and H. Schnabl (1989). "Structure-Activity-Relationship of Organic Substances and Bioindication (in German)." Vom Wasser 70: 21-32.
- Spieser, O. H. (1981). Fischtest. Korte, F. & Greim, H. (Hrsg.) Überprüfung der Durchführbarkeit von Prüfungsvorschriften und der Aussagekraft der Grundprüfung des E. Chem. G. Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF). München: 242-251.
- Tonogai, Y., S. Ogawa, Y. Ito and M. Iwaida (1982). "Actual Survey on TLM (Median Tolerance Limit) Values of Environmental Pollutants, Especially on Amines, Nitriles, Aromatic Nitrogen Compounds." J.Toxicol.Sci. 7(3): 193-203.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,

Van Leeuwen, C. J. and H. Maas (1985). "The aquatic toxicity of 2,6-dichlorobenzamide (BAM), a degradation product of the herbicide dichlobenil." Environ. Pollut. Ser. A. 37: 105-115.

Van Leeuwen, C. J., J. L. Maas-Diepeveen, G. Niebeek, W. H. A. Vergouw, P. S. Griffioen and M. W. Luyken (1985). "Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds. Short-term tests." Aquat. Toxicol. 7: 145-164.

Weber, A., T. Christlieb and U. Irmer (1984). "Die Kombination eines Unkomplizierten Chemikalien-Toxizitätstests mit einem Multi-Spezies-Testsystem zur Erfassung Synergistischer und Sublethaler Effekte in Aquatischen Ökosystemen." Bundesminister für Forschung und Technologie, Forschungsbericht (03 7293) (OECDG Data File).



## 2-Chloroéthanol – n°CAS : 107-07-3

### 1. CARACTERISTIQUES

#### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ClO
Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	80.51 g/mol (HSDB, 2000)
Densité :	1.197 à 20/4°C (Budavari, 1989)
Point de fusion :	- 89 °C (Verschueren, 2001) - 67.5 °C (Weast, 1979)
Point d'ébullition :	128-130 °C à 101325 Pa (Budavari, 1989)
Pression de vapeur :	653.28 Pa à 20°C (Clayton and Clayton, 1981-1982) 957.25 à 25°C (Daubert and Danner, 1989)
Solubilité dans l'eau :	miscible (> 1×10 <sup>6</sup> mg/L à 20°C Yalkowsky and Dannenfelser, 1992)
Log Kow :	- 0.06 (Hansch <i>et al.</i> , 1995) 0.03 (Hansch and Leo, 1985)
Constante de Henry :	0.0105*/0.0771* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (Meylan and Howard, 1991)
Koc :	1.33* (HSDB, 2000)

\*valeur calculée

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le 2-Chloroéthanol peut être considéré comme une substance très soluble et faiblement volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac et utilisant une constante de Henry égale à 0.0771 Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>, indique des temps de ½ vie de 28.8 jours et de 317.3 jours respectivement (US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004). Par ailleurs, la valeur estimée du Koc suggère une faible adsorption du 2-Chloroéthanol sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau. Ainsi, aucune précaution particulière n'est à prendre lors de la réalisation d'essai d'écotoxicité.

#### 1.2 Persistance

Un temps de demi-vie d'hydrolyse a été estimé à 9.8 ans à pH 7 (Ellington, 1989).

La dégradation du 2-Chloroéthanol par photolyse n'est pas considérée comme significative (HSDB, 2000).

Plusieurs essais de biodégradabilité ont montré que le 2-Chloroéthanol est facilement biodégradable :

Biodégradation comprise entre 50 et 87 % après 10 jours (HSDB, 2000),  
93 % après 28 jours (méthode OCDE 301F) (TUCLID, 2000).

#### 1.3 Bioaccumulation

Des BCF de 0.62 et 3.162 ont été estimés à partir du Log Kow = 0.03 (Hansch and Leo, 1985) par Lyman *et al.*, 1982 et US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004 (BCFWIN v.2.15)

respectivement. Sur la base de ces résultats, la bioconcentration du 2-Chloroéthanol dans les organismes aquatiques ne semble pas significative (HSDB, 2000).

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>50</sub> (72 h) biomasse	2.9	2	BASF AG, 1990
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>50</sub> (72 h) croissance	5.6	2	BASF AG, 1990
Micro-organismes	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	IC <sub>50</sub> (36 h)	5580	4	Sauvant <i>et al.</i> , 1995a
	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	IC <sub>50</sub> (9 h)	9000	4	Sauvant <i>et al.</i> , 1995b
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	100	3	Conway <i>et al.</i> , 1983
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	189	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	227	2	Kühn <i>et al.</i> , 1989
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	235	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	320	2	Elnabarawy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	320	2	Elnabarawy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Daphnia pulex</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	340	2	Elnabarawy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	553	4	Trenel and Kühn, 1982
	<i>Artemia salina</i> *	LC <sub>50</sub> (48 h)	680	2	Conway <i>et al.</i> , 1983
Crustacés	<i>Orconectes immunis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	> 80.9	3	Phipps and Holcombe, 1985
	<i>Orconectes immunis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	229	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
Echinodermes	<i>Arbacia punctulata</i> *	EC <sub>50</sub> (1 h) reproduction	550.4	4	Nacci <i>et al.</i> , 1986
	<i>Arbacia punctulata</i> *	EC <sub>50</sub> (5 h) croissance	596	4	Nacci and Jackim, 1985
	<i>Arbacia punctulata</i> *	EC <sub>50</sub> (48 h) croissance	1412	4	Jackim and Nacci, 1984
Insectes	<i>Tanytarsus dissimilis</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	118	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
Poissons	<i>Gambusia affinis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	15.5	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	18	3	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Carassius auratus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	19.1	2	Phipps and Holcombe, 1985
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	21.5	2	Phipps and Holcombe, 1985

	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	21.6	3	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Carassius auratus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	24.1	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	26.4	2	Phipps and Holcombe, 1985
	<i>Carassius auratus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	28.5	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Oryzias latipes</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	30.1	2	Holcombe, 1995
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	33.2	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	35.6	2	Phipps and Holcombe, 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	37	2	Brooke <i>et al.</i> , 1984
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	37.5	3	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	38.4	3	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	38.9	3	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	39.2	2	Geiger <i>et al.</i> , 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	39.5	2	Phipps and Holcombe, 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	50.5	2	Geiger <i>et al.</i> , 1986
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	54.2	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	54.6	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	67	3	Conway <i>et al.</i> , 1983
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	73.1	3	Brooke <i>et al.</i> , 1984
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	79.2	2	Broderius <i>et al.</i> , 1995
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	83.7	3	Geiger <i>et al.</i> , 1986
<b>Amphibiens</b>	<i>Rana catesbeiana</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	18.6	2	Thurston <i>et al.</i> , 1985

\*espèces marines

#### Algues :

Les essais de BASF AG, 1990 sur *Scenedesmus subspicatus* sont cités dans IUCLID, 2000. Ils ont été réalisés selon une norme allemande (DIN 38412/9).

*Le rapport d'essai original n'a pas pu être consulté. Mais ces essais suivent une norme et les propriétés physico-chimiques de la substances ne nécessite pas de précautions particulière dans le protocole de test. Il a donc été décidé de prendre en compte ces résultats.*

#### Micro-organismes :

Les essais de Sauvant *et al.*, 1995a et de Sauvant *et al.*, 1995b sont cités dans la base de données AQUIRE, mais les publications originales n'ont pu être consultées.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de ces essais et les valeurs obtenues ne sont données qu'à titre indicatif.*

#### Micro-crustacés :

Conway *et al.*, 1983 ont étudié la toxicité aiguë du 2-Chloroéthanol sur une espèce d'eau douce, *Daphnia magna* et d'eau salée, *Artémia salina*. Le protocole expérimental de l'essai sur *Artémia salina* est celui décrit dans Price *et al.*, 1974 et utilise un système statique, fermé et sans aération. La température du milieu était de 24.5°C. Trente à cinquante artémies par mL d'eau de dilution (eau de mer synthétique) ont été utilisées par concentration d'essai. Trois concentrations ont été testées : 100, 1000 et 10000 mg/L et deux contrôles ont été réalisés. Le critère d'effet mesuré était la mortalité définie par l'absence de mouvement des appendices. Le protocole expérimental de l'essai sur *Daphnia magna* n'est pas présenté, seule l'utilisation d'un système statique est indiqué. Pour *Daphnia magna*, les LC<sub>50</sub> sur 24 h et 48 h ont été déterminées à 675 et 100 (50 – 200) mg/L respectivement et pour *Artémia salina*, la LC<sub>50</sub> (24 h) a été déterminée supérieure à 1000 mg/L et la LC<sub>50</sub> (48 h) égale à 680 mg/L.

*Ces essais sont peu renseignés et notamment celui sur Daphnia magna qui ne fait mention d'aucun paramètres expérimentaux. Seules 3 concentrations différentes ont été testées, et la gamme ne semble pas adaptée (la LC50 pour la daphnie correspond à la plus basse concentration testée). Le résultat pour Daphnia ne sera pas retenu. Celui sur Artemia sera considéré comme valide avec restriction.*

Elnabarawy *et al.*, 1986 ont réalisé des essais aigus sur *Daphnia magna*, *Daphnia pulex* et *Ceriodaphnia reticulata* en conditions statiques, fermées et sans aération. Tous les organismes ont été élevés dans une eau de qualité identique à celle utilisée durant l'essai et étaient nourris quotidiennement. Le milieu d'essai a été élaboré à partir d'eau déchlorée qui a été oxygénée jusqu'à saturation avant le début des essais. Les paramètres physico-chimiques du milieu d'essai ont été mesurés, conformément à l'« APHA<sup>32</sup> » (1992), au début et à la fin de chaque test. L'alcalinité était de 230 ± 10 mg CaCO<sub>3</sub>/L, la dureté de 240 ± 10 mg CaCO<sub>3</sub>/L, le pH de 8 ± 0.3 et la température a été maintenue à 23 ± 1°C. Une photopériode de 16 heures a été appliquée. Un minimum de 5 concentrations ont été testées en duplicata. Dix individus de chaque espèce et âgés de moins de 24 h ont été utilisés par réplicat dans 200 mL de milieu (volume des récipients d'essai : 250 mL). Un groupe témoin de l'eau de dilution a également été réalisé. Aucune alimentation n'a été administrée aux organismes durant les essais. Le critère d'effet mesuré était la mortalité ou l'immobilité. Les EC<sub>50</sub> ont été déterminées sur 48 h à partir des concentrations nominales :

- Pour *Daphnia magna* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 320 (280 – 380) mg/L
- Pour *Daphnia pulex* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 340 (310 – 390) mg/L
- Pour *Ceriodaphnia reticulata* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 320 (290 – 370) mg/L

*Le protocole est globalement satisfaisant mis à part l'absence de certaines informations telles que les valeurs des concentrations d'essai, la concentration en oxygène dissous mesurée en fin de test et la mortalité obtenue dans les témoins. La température est légèrement supérieure à celle recommandée par la ligne directrice 202 de l'OCDE (de 18 à 22 °C). Les concentrations n'ont pas été mesurées, mais d'après ses propriétés physico-chimiques, des pertes significatives de la substance ne sont pas attendues. Compte-tenu de ces remarques, ces essais sont considérés valides avec restrictions.*

L'essai de Kühn *et al.*, 1989 sur *Daphnia magna* (< 24 h) est bien renseigné et applique la norme DIN 38 412, Part II (German Institute of Standardization, 1982). L'essai a été réalisé en système statique (20°C, pH initial de 8 ± 0.2) et sans alimentation des daphnies. Les concentrations testées ont été choisies de manière à avoir 3 à 4 concentrations induisant des

---

<sup>32</sup> American Public Health Association (APHA), American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. 1980. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 15<sup>th</sup> ed. APHA, Washington, DC.

pourcentages d'effet compris entre 0 et 100%. Vingt daphnies ont été utilisées pour chaque concentration d'essai, réparties en deux groupes de 10 animaux. Un contrôle a également été réalisé. Les essais ont été menés dans des béchers de 50 mL contenant chacun 10 individus. L'effet mesuré était l'immobilité. Au bout de 24 et 48 heures, les daphnies immobiles dans les récipients d'essai et le contrôle ont été dénombrés. Le pH et la concentration en oxygène dissous ont été vérifiés en fin d'essai et sont restés dans des limites acceptables de validité de l'essai : pH non inférieur à 7 et concentration O<sub>2</sub> dissous supérieure à 4 mg/L. Il a également été vérifié que la mortalité n'excédait pas 10% parmi les témoins. Une EC<sub>50</sub> (24 h) = 1254 (1029 – 1527) mg/L et une EC<sub>50</sub> (48 h) = 227 (187 – 275) mg/L ont été déterminées à partir des concentrations nominales.

*Les conditions expérimentales sont bien renseignées et sont conformes aux critères de validité prescrits par la ligne directrice 202 de l'OCDE. Mais 2 réplicats seulement ont été réalisés, il n'y a pas d'indications sur les valeurs des concentrations testées et l'amplitude des intervalles de confiance est relativement élevée. Ce résultat est donc jugé valide mais avec restrictions.*

L'essai de Thurston *et al.*, 1985 sur *Daphnia magna* (< 24h) a été réalisé en deux fois, dans des conditions de milieu statiques et fermées. La pureté de la substance était de 98%. L'alcalinité était de 172 ± 6 mg CaCO<sub>3</sub>/L et la dureté de l'eau de 196 ± 9 mg CaCO<sub>3</sub>/L. La température a été maintenue entre 20 et 24 °C (moyennes de 22.6 et 22.8°C pour les deux essais) et le pH entre 8.46 et 8.63. Cinq à sept concentrations ont été testées, chacune en 4 exemplaires, et un groupe témoin a également été réalisé. 20 daphnies ont été utilisées par concentration d'essai, réparties en 4 groupes de 5 animaux. Les essais ont été menés dans des récipients de 250 mL contenant 200 mL de solution. Le critère d'effet mesuré était l'immobilité. Les concentrations ont été mesurées au début et à la fin de chaque test. La teneur en oxygène dissous a été suivie et était comprise entre 6.89 et 7.42 mg/L. Pour chacun des deux essais effectués, pas plus de 5% des daphnies ont été immobilisées dans le groupe témoin. Deux EC<sub>50</sub> (48 h) ont donc été déterminées, l'une égale à 235 (197 – 280) mg/L et l'autre égale à 189 (154 – 231) mg/L.

*Le protocole est globalement satisfaisant mis à part l'absence d'information pour certains paramètres tels que les valeurs des concentrations d'essai et les conditions de luminosité. La température est légèrement supérieure à celle recommandée par la ligne directrice 202 de l'OCDE (de 18 à 22 °C). Compte-tenu de ces remarques, ces essais sont considérés valides avec restrictions.*

Trenel and Kühn, 1982 ont réalisé un essai de toxicité aiguë sur *Daphnia magna* mais la publication originale n'a pu être consultée. Une EC<sub>50</sub> (24 h) = 553 mg/L a été déterminée.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de l'essai.*

#### Crustacés :

L'essai de Phipps and Holcombe, 1985 sur *Orconectes immunis* (2 g) a été réalisé dans le cadre d'une étude de la toxicité aiguë du 2-Chloroéthanol sur plusieurs espèces d'eau douce (cf. partie 2.1 poissons). Le protocole expérimental est détaillé plus bas. 10 individus ont été utilisés pour chacune des 5 concentrations d'essai et pour le groupe témoin. La LC<sub>50</sub> (96 h) > 80.9 mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

*Le protocole ne permet pas de déterminer significativement une valeur de LC<sub>50</sub> sur 96 heures, celle-ci étant supérieure à la gamme de concentrations testées. Ce résultat n'est donc pas exploitable.*

L'essai de Thurston *et al.*, 1985 sur *Orconectes immunis* (0.76 g) a été réalisé sur 96 heures, en système dynamique : temps de renouvellement du milieu = 3 à 8h. La température du milieu d'essai était de 13.2 - 14°C et le pH de 8.2 – 8.27. La pureté de la substance était de 98 %. L'alcalinité était de 172 ± 6 mg CaCO<sub>3</sub>/L et la dureté de l'eau de 196 ± 9 mg CaCO<sub>3</sub>/L. La

gamme testée comprenait 5 à 7 concentrations plus un témoin. Les animaux ont été testés individuellement afin d'éviter le cannibalisme, soit 10 individus par concentration et par récipient d'essai. La teneur en oxygène dissous a été suivie durant le test et s'est échelonnée de 8.34 à 8.71 mg/L. Les concentrations ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse au début du test, puis après 48 ou 72 heures et à la fin de l'essai. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée dans le groupe témoin. Il a été déterminé une  $LC_{50}$  (96 h) = 229 (183 – 287) mg/L.

*Il n'existe pas de ligne directrice de référence pour des essais sur cette espèce. Néanmoins le protocole rapporté apparaît adapté à la biologie de ces organismes. L'essai est donc jugé valide avec restriction.*

#### Echinodermes :

Les essais de Jackim and Nacci, 1984 ; Nacci and Jackim, 1985 et Nacci *et al.*, 1986 sur oursins sont cités dans la base de données AQUIRE, mais les publications originales n'ont pas été consultées.

*Ces résultats ne sont données qu'à titre indicatif.*

#### Insectes :

Thurston *et al.*, 1985 ont testé *Tanytarsus dissimilis* (diptères) au 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> stade larvaire. Les conditions du milieu (pH : 8.33 – 8.41 ; température : 20.5°C) étaient statiques. 20 larves ont été utilisées par concentration d'essai et 5 à 7 concentrations ont été testées en deux exemplaires (soit 10 larves par réplicat). Les concentrations ont été mesurées au début et à la fin de chaque test. La teneur en oxygène dissous était comprise entre 5.22 et 5.52 mg/L. Au bout de 48 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée dans le groupe témoin. Une  $LC_{50}$  (48 h) a été déterminée égale à 118 (96.9 – 143) mg/L.

*Il n'existe pas de ligne directrice de référence pour cette espèce. Néanmoins le protocole apparaît adapté à la biologie de ces organismes. Cet essai est jugé valide avec restriction.*

#### Poissons :

Le test de Broderius *et al.*, 1995 a été réalisé en flot continu à 25°C avec un suivi analytique quotidien des concentrations d'essai. 20 juvéniles de *Pimephales promelas* âgés de 26 à 34 jours ont été testés par concentration d'essai (4 ou 5 en duplicata). Deux contrôles ont également été réalisés. La dureté de l'eau, l'alcalinité et le pH étaient approximativement de 45 mg/L de  $CaCO_3$ , 42 mg/L de  $CaCO_3$  et 7.8 respectivement. Le degré de pureté de la substance était  $\geq 95\%$ . La mortalité a été enregistrée tous les jours. Au bout de 96 heures d'exposition, une  $LC_{50}$  de 79.2 mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées en 2-Chlorophénol.

*Il manque un certain nombre d'informations, notamment sur le nombre et les valeurs des concentrations testées et sur la concentration en oxygène dissous. De même, aucune indication sur la mortalité des témoins n'est fournie. Cependant, l'essai a été réalisé selon un protocole de l'U.S. EPA. Cet essai est considéré valide avec restrictions.*

Brooke *et al.*, 1984 rapportent deux essais aigus réalisés sur *Pimephales promelas* en flot continu. Ces essais ont été menés au sein de l'U.S. EPA Laboratory-Duluth. Les conditions d'élevage et les protocoles sont bien renseignés. Le degré de pureté de la substance était de l'ordre de 99%. Les poissons sont nés directement au laboratoire et ont été élevés à 25°C, en flot continu avec une photopériode de 16 heures. Ils ont été alimentés au plus 3 fois par jours, jusqu'à 24 heures avant le début des essais. Un suivi analytique des concentrations d'essai et des paramètres physico-chimiques de l'eau a été réalisé. Les résultats expérimentaux bruts sont fournis.

Le premier essai a été réalisé en 1980 à partir de la substance non diluée. Cinq concentrations et un contrôle ont été testés en duplicata. La température était de  $25.7 \pm 0.5^\circ C$ , la dureté de

l'eau de  $47.4 \pm 0.1$  mg CaCO<sub>3</sub>/L, l'alcalinité de  $42 \pm 0.14$  mg CaCO<sub>3</sub>/L, le pH de  $7.55 \pm 0.01$  et la concentration en O<sub>2</sub> dissous de  $6.3 \pm 0.57$  mg/L. Les valeurs nominales des concentrations d'essai étaient de 29.7 mg/L, 49.5 mg/L, 82 mg/L, 137 mg/L et 229 mg/L et ces valeurs ont été maintenues à plus de 80% de leur valeur nominale. 25 individus âgés de 32 jours (21.9 mm de long, 0.156 g) ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle, dans 6.3 L de milieu. La charge était de 0.619 g/L. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée dans le groupe témoin ni pour la plus faible des concentrations testées. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 37 (35 – 40) mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

Le deuxième essai a été réalisé en 1982 et la préparation des solutions d'essai s'est faite par dilution d'une solution mère. Cinq concentrations et un témoin ont été testés. 20 individus âgés de 30 jours (23.3 mm, 0.193 g) ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle, dans 1 L de milieu. La charge était de 3.86 g/L. La température était de  $25.4 \pm 0.73$ °C, la dureté de l'eau de 44 mg CaCO<sub>3</sub>/L, l'alcalinité de 43 mg CaCO<sub>3</sub>/L, le pH de  $7.61 \pm 0.12$  et la concentration en O<sub>2</sub> dissous de  $5.6 \pm 0.44$  mg/L. D'après le suivi analytique, les valeurs des concentrations d'essai ont déviées à plus de 20% de leurs valeurs nominales : les valeurs moyennes étaient de 34.6 mg/L, 46.4 mg/L, 63.8 mg/L, 99 mg/L et 159 mg/L. La LC<sub>50</sub> (96 h) = 73.1 (64.9 – 82.3) mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées. Il n'y a pas eu de mortalité parmi les témoins. En raison d'une forte diminution de la concentration en O<sub>2</sub> dissous (2.1 mg/L) pour la plus faible des concentrations testées, les résultats obtenus à cette concentration n'ont pas été pris en comptes.

*Ces deux essais sont bien renseignés. Cependant, certains paramètres ne sont pas conformes à ceux recommandés par la ligne directrice 203 de l'OCDE : la température (un intervalle de 21 – 25°C est recommandé par l'OCDE) et, pour le deuxième essai, la charge en poisson est trop élevée (une charge maximale de 1 g/L est recommandée par l'OCDE pour les essais semi-statiques) et surtout la faible teneur en oxygène dissous. Le premier essai est considéré comme valide avec restriction et le second est considéré comme non valide.*

L'essai de Conway *et al.*, 1983 sur *Pimephales promelas* a été réalisé en milieu statique selon une procédure EPA et ASTM<sup>33</sup>. 10 poissons ont été testés par concentration d'essai dans 10 à 15 L de milieu (eau déchlorée). La mortalité a été enregistrée après 24, 48 et 96 heures d'exposition. Suite à des problèmes expérimentaux concernant la taille des échantillons et la concentration en O<sub>2</sub> dissous, l'essai aurait été réalisé une seconde fois en y apportant les modifications nécessaires. Ainsi, deux valeurs pour chaque LC<sub>50</sub> sont citées :

- LC<sub>50</sub> (24 h) = 768 et 995 mg/L
- LC<sub>50</sub> (48 h) = 163 (140 – 185) et 164 (120 – 236) mg/L
- LC<sub>50</sub> (96 h) = 67 (19 – 84) et 112 (90 – 131) mg/L

*L'essai est très peu renseigné avec notamment l'absence d'informations sur l'existence de groupes témoins, le nombre et les valeurs des concentrations testées, la concentration en O<sub>2</sub> dissous, les soins apportés aux poissons, les caractéristiques de l'eau de dilution et les modifications expérimentales apportées à l'essai. De plus, il n'est pas indiqué laquelle des deux valeurs de LC<sub>50</sub> (96 h) est issue de l'essai réalisé après modifications de paramètres expérimentaux. Par conséquent, ces résultats ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

L'essai de Geiger *et al.*, 1985 sur *Pimephales promelas* a été réalisé en flot continu. Les conditions d'élevage et le protocole sont bien renseignés. Le degré de pureté du 2-Chloroéthanol était de l'ordre de 99%. Un suivi analytique des concentrations d'essais et des paramètres physico-chimiques de l'eau a été réalisé. Les résultats expérimentaux bruts sont fournis. Cinq

---

<sup>33</sup> Committee on Methods for Toxicity Tests with Aquatic Organisms, 1975 « Methods for Acute Toxicity Tests with Fish, Macroinvertebrates and Amphibians » ; EPA-660/3-75-009.

concentrations et un témoin ont été testés en duplicata. Des poissons âgés de 44 jours et pesant en moyenne 0.39 g ont été utilisés. Ils ont été testés par groupes de 10 dans 24 L de milieu, soit une charge de 0.1625 g/L. La dureté du milieu a été mesurée à  $45 \pm 0.75$  mg CaCO<sub>3</sub> /L, son alcalinité à  $45.5 \pm 0.5$  mg CaCO<sub>3</sub> /L et son pH à  $7.49 \pm 0.16$ . La teneur en oxygène dissous a été mesurée à 6 mg/L et la température était de  $17.5 \pm 0.58$  °C. La LC<sub>50</sub> sur 96 h a été calculée à 39.2 (35.1 – 43.8) mg/L à partir des concentrations mesurées. Il n'y a pas eu de mortalité parmi les témoins ni pour les trois plus faibles concentrations testées.

*L'essai est bien renseigné, le protocole expérimental apparaît globalement satisfait et les critères de validité de l'essai définis par la ligne directrice 203 de l'OCDE ont été remplis. Toutefois, la température paraît faible par rapport à celles recommandées (21 – 25°C) et la gamme des concentrations testées ne semble pas très bien choisie pour la détermination de la LC<sub>50</sub>. Sous ces restrictions, l'essai est considéré comme valide.*

Geiger *et al.*, 1986 rapportent deux essais aigus réalisés sur *Pimephales promelas* en flot continu. Les conditions d'élevage et le protocole des essais sont bien renseignés. Le degré de pureté de la substance était de l'ordre de 99%. Un suivi analytique des concentrations d'essais et des paramètres physico-chimiques de l'eau a été réalisé. Les résultats expérimentaux bruts sont fournis.

Le premier essai a été réalisé en janvier 1985. Cinq concentrations ont été testées, ainsi qu'un témoin. Des poissons âgés de 28 jours (15.1 mm de long) et pesant en moyenne 0.073 g ont été utilisés. Ils ont été testés par groupe de 20 dans 1.2 L de milieu, soit une charge de 1.217 g/L. La dureté du milieu a été mesurée à  $52.3 \pm 1.94$  mg CaCO<sub>3</sub> /L, son alcalinité à  $44.2 \pm 1.27$  mg CaCO<sub>3</sub> /L et son pH à  $7.22 \pm 0.03$ . La teneur en oxygène dissous a été mesurée à  $7.1 \pm 0.52$  mg/L et la température était de  $24 \pm 0.55$  °C. La LC<sub>50</sub> (96 h) = 83.7 (75 – 93.4) mg/L a été calculée à partir des résultats obtenus à 72 h et 96 h. Il n'y a pas eu de mortalité parmi les témoins ni pour les trois plus faibles concentrations testées.

Le deuxième essai a été réalisé en avril 1985. Cinq concentrations et un contrôle ont été testés en duplicata. La température était de  $24.7 \pm 0.37$ °C, la dureté de l'eau de  $49.2 \pm 1.28$  mg CaCO<sub>3</sub>/L, l'alcalinité de  $39.6 \pm 0.8$  mg CaCO<sub>3</sub>/L, le pH de  $7.14 \pm 0.05$  et la concentration en O<sub>2</sub> dissous de  $8 \pm 0.27$  mg/L. 10 individus âgés de 30 jours (24.3 mm, 0.26 g) ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle, dans 10.7 L de milieu. La charge était de 0.243 g/L. A la fin du test, aucune mortalité n'a été enregistrée dans le groupe témoin ni pour les deux plus faibles concentrations testées. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 50.5 (43.5 – 58.7) mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

*Ces deux essais sont bien renseignés. La gamme des concentrations testées ne semblent pas très bien choisies pour la détermination d'une LC50. Ces essais sont considérés valides avec restriction.*

L'essai de Holcombe, 1995 sur *Oryzias latipes* a été conduit dans des conditions de milieu dynamiques (renouvellement continu : 25 mL/min) et fermées. La méthode utilisée suit les recommandations de l'ASTM 1980. Le milieu d'essai a été confectionné à partir d'eau naturelle filtrée. Un suivi analytique des concentrations d'essai et des caractéristiques de l'eau a été réalisé. La dureté totale de l'eau a été déterminée à 45.8 mg/L CaCO<sub>3</sub>, l'alcalinité à 45.9 mg CaCO<sub>3</sub>/L et la concentration en oxygène dissous à  $6.8 \pm 0.7$  mg/L. Au cours de l'essai, le pH s'est échelonné entre 7.31 et 8.85 et la température s'est maintenue à  $25 \pm 1$ °C. Une lumière artificielle (photopériode de 16h) a été utilisée. La pureté de la substance était de 99%. Les organismes testés étaient âgés de 28 à 43 jours ( masses comprises entre 18 et 71 mg) et ont arrêtés d'être 24 h avant le début de l'essai. Des groupes de 20 individus ont été exposés à 5 concentrations ( $11.3 \pm 1.5$ ,  $21.2 \pm 1.6$ ,  $40.1 \pm 1.7$ ,  $76.3 \pm 2$  et  $152 \pm 1.9$  mg/L) dans 2 L de milieu. Chaque essai était dupliqué, soit dix individus par réplicat. Un groupe témoin a

également été réalisé avec le même nombre d'individus. Aucune mortalité n'est apparue dans ce lot. Au bout de 96 h d'exposition, la LC<sub>50</sub> a été déterminée à 30.1 (26.4 – 37.4) mg/L.

*L'essai est bien renseigné, et les informations fournies apparaissent satisfaisantes. L'essai est donc considéré comme valide.*

Phipps and Holcombe, 1985 ont testé la toxicité du 2-Chloroéthanol sur plusieurs poissons d'eau douce : *Lepomis macrochirus* (0.4 g), *Oncorhynchus mykiss* (2.2 g), *Pimephales promelas* (0.4 g), *Ictalurus punctatus* (3.2 g) et *Carassius auratus* (2.9 g). Ces poissons n'ont pas été nourris avant 24 heures et durant le test. Les conditions expérimentales étaient : température de 17.3 ± 0.6°C; pH 7.1 - 7.8 ; dureté de 44.4 (40.7 – 46.6) mg CaCO<sub>3</sub>/L; alcalinité de 45.4 (42.3 – 57) mg CaCO<sub>3</sub>/L. Des lampes fluorescentes fournissaient une intensité lumineuse à la surface de l'eau de 28 lumens pour une photopériode de 16 heures. Un système de renouvellement continu a été utilisé : 90% du milieu était renouvelé en 6h (débit = 130 mL/min). Ce flot continu a permis de maintenir la teneur en oxygène dissous supérieure à 50 % de la saturation (mesurée à 7.5 ± 1.6 mg/L) et le plus souvent supérieure à 60% de la saturation. 5 concentrations (10 ± 2.7 ; 16.1 ± 1.5 ; 25.5 ± 3.9 ; 45.9 ± 4.7 et 80.9 ± 3.7 mg/L) et un témoin ont été testés en duplicata. Un suivi analytique quotidien des concentrations d'essai révèle qu'il n'y a pas eu de pertes significatives. Pour toutes les espèces, 20 individus ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour les témoins, soit 10 individus par réplicat. La mortalité a été enregistrée chaque 24 h. Les LC<sub>50</sub> ont été déterminées à partir des concentrations mesurées :

- pour *Pimephales promelas* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 39.5 (35.3 – 44.2) mg/L
- pour *Oncorhynchus mykiss* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 35.6 (30.8 – 41.2) mg/L
- pour *Carassius auratus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 19.1 (16.8 – 21.7) mg/L
- pour *Ictalurus punctatus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 26.4 (23.2 – 30.1) mg/L
- pour *Lepomis macrochirus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 21.5 (19.2 – 24.1) mg/L

*Ces essais sont bien renseignés et le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant mis à part l'absence d'informations sur la mortalité obtenue dans le groupe témoin. La diminution transitoire de la teneur en oxygène dissous en deçà de la limite des 60 % de la saturation pourrait avoir eu des effets, notamment sur les espèces particulièrement sensibles à ce critère comme *Oncorhynchus mykiss*. Par ailleurs, la température du milieu paraît faible, (sauf pour *Oncorhynchus mykiss*), par rapport à celles recommandées par la ligne directrice 203 de l'OCDE (21 – 25°C). Cette étude est donc jugée valide sous restrictions.*

Thurston *et al.*, 1985 ont testé plusieurs espèces sur 96 heures et dans la plupart des cas en deux fois : *Lepomis macrochirus* (0.66/1.79g), *Oncorhynchus mykiss* (2.47/3.10g), *Pimephales promelas* (0.65/0.94 g), *Gambusia affinis* (0.24 g), *Carassius auratus* (1.77/2.9g) et *Ictalurus punctatus* (1.89/3.09g). Ces poissons ont subi un traitement antiparasitaire à base de formaldéhyde pendant environ 1 heure, mis à part les salmonidés qui ont été traités seulement si nécessaire. Durant au moins deux semaines et le plus souvent deux mois précédant l'essai, les poissons ont été gardés dans une eau de qualité identique à celle utilisée dans l'essai. Ils étaient alimentés deux fois par jour. La température du milieu a été mesurée trois fois au cours des tests et était adaptée à chaque espèce. Pour chaque test, 5 concentrations et un contrôle ont été testées. La contamination du milieu d'essai s'est faite par renouvellement continu : le temps de renouvellement était entre 3 et 8h. Dix poissons ont été utilisés pour chaque concentration d'essai dans des aquariums de 20 – 60 L. L'essai a été réalisé deux fois pour chaque espèce sauf pour *Gambusia affinis*. La pureté de la substance était de 98%. Les concentrations ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse au début du test, puis après 48 ou 72 heures et à la fin de chaque test. Une conductance de 337 ± 23 Siemens à 25 °C a été mesurée, l'alcalinité était de 172 ± 6 mg CaCO<sub>3</sub>/L et la dureté de l'eau de 196 ± 9 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Le pH s'est échelonné entre 7.81 et 8.16. La concentration en oxygène dissous a été mesurée deux fois au cours du test : elle est restée supérieure à 60 % de la valeur de saturation en air sauf

pour les essais sur *Pimephales promelas* et *Ictalurus punctatus* et également pour l'un des deux essais réalisés sur *Lepomis macrochirus* (1.79 g). Il a été vérifié que la mortalité chez les témoins ne dépassait pas 10 %. Les LC<sub>50</sub> ont été déterminées à partir des concentrations mesurées et deux valeurs de LC<sub>50</sub> sont donc indiquées (sauf pour *Gambusia affinis*) :

- pour *Gambusia affinis* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 15.5 (13.9 – 17.4) mg/L
- pour *Ictalurus punctatus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 18 (15.9 – 20.5) mg/L et 21.6 (19.4 – 24.1) mg/L
- pour *Carassius auratus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 24.1 (18.9 – 30.7) mg/L et 28.5 (20.3 – 40) mg/L
- pour *Lepomis macrochirus* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 33.2 (29.3 – 37.7) mg/L et 37.5 (32.8 – 42.8) mg/L
- pour *Pimephales promelas* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 38.4 (32.8 – 44.9) mg/L et 38.9 (33.2 – 45.6) mg/L
- pour *Oncorhynchus mykiss* : LC<sub>50</sub> (96 h) = 54.2 (49.2 – 59.8) mg/L et 54.6 (46.3 – 64.5) mg/L

Ces essais sont relativement bien renseignés mis à part l'absence d'informations sur les valeurs des concentrations testées. Selon la ligne directrice 203 de l'OCDE, la concentration en O<sub>2</sub> dissous doit rester > à 60 % de la valeur de saturation en air pendant toute la durée de l'essai. Compte-tenu de ces remarques, les essais qui ont été réalisés à une concentration en O<sub>2</sub> dissous satisfaisante sont jugés valides avec restrictions, les autres ont été invalidés.

#### Amphibiens :

L'essai de Thurston *et al.*, 1985 sur *Rana castebiana* (5.34 g) a porté sur les formes têtards de cette espèce dont le développement est intégralement aquatique. La température était de 15.9 – 17.7°C et le pH de 8.04 – 8.06. La contamination du milieu était continue. : renouvellement du milieu toutes les 3 à 8 heures. La gamme d'essai comprenait 5 concentrations plus 1 témoin. La pureté de la substance était de 98%. Les concentrations ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse, au début du test, puis après 48 ou 72 heures et à la fin de l'essai. La teneur en oxygène dissous a aussi été suivie et s'est échelonnée entre 7.5 et 8.43 mg/L avec une moyenne à 8.13 mg/L. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée chez les témoins. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 18.6 (14 – 24.7) a été déterminée.

Il n'existe pas de ligne directrice de référence pour les amphibiens. Cependant cet essai peut être considéré comme pertinent. Le résultat obtenu indique une toxicité relativement élevée du 2-Chloroéthanol vis-à-vis des amphibiens.

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Algues</b>	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>10</sub> (72 h) biomasse	0.3	2	BASF AG, 1990
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>10</sub> (72 h) croissance	0.95	2	BASF AG, 1990
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	IC <sub>10</sub> fluorescence	2	3	Schmidt and Schnabl, 1989
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	IC <sub>10</sub> croissance	35	3	Schmidt and Schnabl, 1989
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>03</sub> (7 j.) histologie	45	3	Trenel and Kühn, 1982
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Daphnia magna</i> <i>Daphnia pulex</i> <i>Ceriodaphnia reticulata</i>	MATC (14 et 7 j.)	< 5.6	3	Elnabarawy <i>et al.</i> , 1986
<b>Poissons</b>	<i>Oryzias latipes</i>	NOEC (38 j.)	12.6	2	Holcombe, 1995
	<i>Oryzias latipes</i>	NOEC (28 j.)	22.1	3	Holcombe, 1995

#### Algues :

Les essais de BASF AG, 1990 sur *Scenedesmus subspicatus* sont cités dans IUCLID, 2000. Ils ont été réalisés selon une norme allemande (DIN 38412/9).

*Le rapport d'essai original n'a pas pu être consulté. Mais ces essais suivent une norme et les propriétés physico-chimiques de la substance ne nécessitent pas de précautions particulière dans le protocole de test. Il a donc été décidé de prendre en compte ces résultats. La NOEC déterminée sur le taux de croissance sera préférée par rapport à celle sur la biomasse.*

Schmidt and Schnabl, 1989 ont testé l'influence du 2-Chloroéthanol sur le taux de croissance ( $IC_{10} = 35$  mg/L) et sur la diminution de fluorescence ( $IC_{10} = 2$  mg/L) de *Scenedesmus subspicatus*. Ces résultats sont cités dans Verschueren, 2001 et ont pu être vérifiés dans la publication originale.

*La durée du test n'est pas précisée et le détail du protocole des essais ne sont pas précisés dans la publication originale. Il n'est donc pas possible de juger de la validité des résultats qui ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

Trenel and Kühn, 1982 ont réalisé un essai de toxicité chronique sur l'histologie de *Scenedesmus subspicatus*. Une  $EC_{03}$  (7 j.) = 45 mg/L a été déterminée.

*Le critère d'effet n'est pas jugé pertinent pour la détermination. Ce résultat ne sera donc pas retenu.*

#### Micro-crustacés :

Suite à la réalisation d'essais court terme (cf. partie 2.1), Elnabarawy *et al.*, 1986 ont réalisé des essais chroniques sur *Daphnia magna*, *Daphnia pulex* et *Ceriodaphnia reticulata* en système semi-statique : le renouvellement du milieu était effectué toutes les 48 heures. La durée d'exposition au 2-Chloroéthanol a été de 14 jours pour *Daphnia magna* et *Daphnia pulex* et de 7 jours pour *Ceriodaphnia reticulata*. Tous les organismes ont été élevés dans une eau de qualité identique à celle utilisée durant l'essai et étaient nourris quotidiennement. Le milieu d'essai a été élaboré à partir d'eau déchlorée et oxygénée jusqu'à saturation. Une photopériode de 16 heures a été appliquée. Le taux de nourriture quotidien était de 0.03 mg de solide par mL de solution d'essai. 5 concentrations (5.6, 10, 18, 32 et 56 mg/L) et un groupe témoin de l'eau de dilution ont été testés. 10 animaux répartis individuellement ont été utilisés pour chaque concentration d'essai. Pour les essais réalisés sur *Daphnia magna* et *Daphnia pulex*, chaque individu a été placé dans un récipient de 100 mL contenant 50 mL de solution ; pour *Ceriodaphnia reticulata*, chaque individu a été placé dans un récipient de 30 mL contenant 15 mL de solution. A chaque renouvellement de milieu, les paramètres physico-chimiques du milieu d'essai ont été mesurés selon « l'APHA<sup>1</sup> » (1992). La concentration en oxygène dissous est restée supérieure à 5 mg/L, la température a été maintenue à  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , le pH était de  $8 \pm 0.3$  et la dureté de l'eau de  $240 \pm 10$  mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ . Lors du renouvellement du milieu, plusieurs paramètres ont été mesurés : le moment de la première portée, le nombre de descendants produits par animal parent, la présence d'œufs ou d'éphippies et le pourcentage d'adultes survivants. Pour toutes les espèces et concentrations testées, la mortalité des animaux parents n'a pas dépassé 10 % à la fin des essais. Le nombre moyen de descendants produits par adulte dans le groupe témoin était de 19 pour *Ceriodaphnia reticulata* et  $\geq$  à 60 pour *Daphnia magna* et *Daphnia pulex*. Les effets sur la capacité reproductrice des animaux ont été évalués à partir du nombre moyen cumulé de descendants produits par adulte : des  $EC_{16}$ , MATC et  $EC_{50}$  ont été déterminées à partir des concentrations nominales :

- Pour *Daphnia magna* :
  - $EC_{16}$  (14 j.) = 0.4 mg/L
  - MATC (14 j.) < 5.6 mg/L
  - $EC_{50}$  (14 j.) = 11 (7 – 29) mg/L

- Pour *Daphnia pulex* :
  - EC<sub>16</sub> (14 j.) = 0.4 mg/L
  - MATC (14 j.) < 5.6 mg/L
  - EC<sub>50</sub> (14 j.) = 11 (7 – 29) mg/L
- Pour *Ceriodaphnia dubia* :
  - EC<sub>16</sub> (7 j.) = 0.4 mg/L
  - MATC (7 j.) < 5.6 mg/L
  - EC<sub>50</sub> (7 j.) = 11 (7 – 29) mg/L

Les EC<sub>16</sub> ont été assimilées à des LOEC pour calculer des MATC. Pour les trois espèces étudiées, les MATC se situent en deçà de la gamme de concentrations testées (< 5.6 mg/L) et ne peuvent donc pas être définies.

*Le protocole ne permet pas de déterminer précisément une valeur de NOEC : des effets significatifs sur la capacité reproductrice ont été observés dès la plus faible concentration testée. De plus, pour les daphnies, un essai n'est considéré comme chronique qu'à partir de 21 jours d'exposition. Ces résultats ne peuvent donc pas être utilisés.*

#### Poissons :

Holcombe, 1995 a conduit deux types d'essais chroniques sur *Oryzias latipes* : le premier a été réalisé sur 38 jours dès les premiers stades de la vie et le deuxième a été réalisé sur la croissance des juvéniles après 28 jours d'exposition. Ces deux essais ont été réalisés dans les mêmes conditions que l'essai aigu décrit plus haut (cf. partie 2.1) c'est-à-dire en flot continu avec un suivi analytique régulier des concentrations d'essai et différentes caractéristiques de l'eau. Cinq concentrations ont été testées en duplicata, ainsi qu'un témoin.

Pour le premier essai, des embryons âgés de moins de 24 h ont été répartis par groupes de 75 dans chaque récipient d'essai (soit 150 œufs par concentration). La gamme des concentrations d'essai allait de  $2.18 \pm 0.41$  à  $33.8 \pm 5.9$  mg/L. A partir de 48 h d'exposition, les éclosions et les survivants ont été dénombrés quotidiennement. Après l'éclosion, de la nourriture (crevettes vivantes) a été administrée aux larves 3 fois par jours pendant la semaine et une fois par jour le week-end. Au bout de 28 jours d'exposition, les juvéniles ont été pesés. Dans le groupe témoin, 95.1% des œufs ont éclos et le taux de survie des témoins après éclosion était de 99.2%. Une diminution du nombre d'œufs éclos et de la croissance des juvéniles a été observée dans les groupes exposés au 2-Chloroéthanol mais sans être significativement différente des témoins. Une NOEC (38 j.) = 12.6 mg/L a donc été déterminée par rapport aux résultats obtenus sur la mortalité des larves et juvéniles.

Pour le deuxième essai, les organismes testés étaient des larves âgées de 0 à 3 jours. Des groupes de 120 individus ont été utilisés par concentrations d'essai. La gamme des concentrations d'essai allait de  $1.89 \pm 0.5$  à  $31.4 \pm 1.5$  mg/L. Au cours des 28 jours de test, les organismes ont été nourris 2 fois par jour avec des crevettes vivantes et une fois par jour avec de la nourriture déshydratée durant la première semaine, puis 3 fois par jours du lundi au vendredi avec des crevettes vivantes. A la fin de l'essai, les individus ont été pesés et le pourcentage de mortalité obtenu dans le groupe témoin était de 3.3%. Aucun effet significatif sur la croissance des juvéniles n'a été observé. Une NOEC (28 j.) = 22.1 mg/L a été déterminée à partir des résultats obtenus sur la mortalité.

*Les deux essais sont bien renseignés et les informations fournies sur leur protocole expérimental apparaissent satisfaisantes. Cependant, le deuxième essai sur la croissance des juvéniles n'a pas permis de mettre en évidence une variation significative du taux de croissance. Selon la ligne directrice 215 de l'OCDE, la NOEC établie à partir des concentrations létales n'est pas pertinente pour la détermination d'une PNEC et ce deuxième essai ne sera donc pas utilisé. Par contre, l'essai de toxicité aux premiers stades de la vie est relativement conforme aux recommandations de la ligne directive 210 de l'OCDE. Il est donc considéré comme valide avec restrictions.*

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

On ne dispose que de données chroniques valide pour les algues et les poissons. La donnée chronique la plus faible a été obtenue pour les algues (EC<sub>10</sub> 72h pour le taux de croissance sur *Scenedesmus subspicatus* à 0.95 mg/L de BASF AG, 1990) qui sont également les organismes les plus sensibles en aigu. La PNEC sera donc calculée en appliquant un facteur 50 sur cette valeur, on a donc : PNEC<sub>aqua</sub> = 0.95/50 mg/L, soit :

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 19 \mu\text{g/L}$$

### 4. BIBLIOGRAPHIE

AQUIRE AQUatic toxicity Information REtrieval, US-EPA, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, MN.

BASF AG (1990). "Labor Ökologie, unveröffentlichte Untersuchung, (01/89/0119)."

Broderius, S. J., M. D. Kahl, M. D. Hoglund (1995). "Use of Joint Toxic Response to Define the Primary Mode of Toxic Action for Diverse Industrial Organic Chemicals." Environ.Toxicol.Chem. 14(9): 1591-1605.

Brooke, L. T., D. J. Call, D. L. Geiger, C. E. Northcott (1984). Acute toxicities of organic chemicals to Fathead minnow (*Pimephales promelas*). Vol. I. University of Wisconsin, Superior.

Budavari, S. (1989). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Rahway, NJ.

Clayton, G. D., F. E. Clayton (1981-1982). Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. New York.

Conway, R. A., G. T. Waggy, M. H. Spiegel, R. L. Berglund (1983). "Environmental Fate and Effects of Ethylene Oxide." Environ. Sci. Technol. 17(2): 107-112.

Daubert, T. E., R. P. Danner (1989). Physical and thermodynamic properties of pure chemicals data compilation. Washington, D.C., Taylor and Francis.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

Ellington, J. J. (1989). Hydrolysis Rate Constants for Enhancing Property Reactivity Relationships. Environ Res Lab., USEPA/600/3-89/063.

Elnabarawy, M. T., A. N. Welter, R. R. Robideau (1986). "Relative sensitivity of three Daphnia species to selected organic and inorganic chemicals." Environmental Toxicology and Chemistry 5: 393-398.

Geiger, D. L., L. T. Brooke, D. J. Call (1986). Acute toxicities of organic chemicals to Fathead minnows (*Pimephales promelas*) Volume III. Center of Wisconsin-Superior Environmental Studies. University of Wisconsin-Superior.

Geiger, D. L., C. E. Northcott, D. J. Call, L. T. Brooke (1985). Acute toxicities of organic chemicals to fathead minnows (*Pimephales promelas*). Superior, WI., Center for lake superior environmental studies, University of Wisconsin.

- Hansch, C., A. Leo, D. Hoekman (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and steric constants. American Chemical Society.
- Hansch, C., A. J. Leo (1985). MedChem Project, issue n°26. Pomona college.
- Holcombe, G. W. (1995). "Acute and Long-Term effects of nine chemicals on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*)." Arch Environ Contam Toxicol 28: 287-297.
- HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.
- IUCLID (2000). International Uniform Chemical Information Database.
- Jackim, E., D. Nacci (1984). "A Rapid Aquatic Toxicity Assay Utilizing Labeled Thymidine Incorporation in Sea Urchin Embryos." Environ.Toxicol.Chem. : 5: 561-565.
- Kühn, R., M. Pattard, K. D. Pernak, A. Winter (1989). "Results of the harmful effects of selected water pollutants (Anilines, phenols, aliphatic compounds) to *Daphnia Magna*." Water Res. 23(4): 495-499.
- Lyman, W. J., W. F. Reehl, D. H. Rosenblatt (1982). Handbook of Chemical Property Estimation Methods; Environmental Behavior of Organic Compounds. New York, McGraw-Hill,
- Meylan, W. M., P. H. Howard (1991). "Bond contribution method for estimating Henry's Law Constants." Environmental Toxicology and Chemistry 10: 1283-1293.
- Nacci, D., E. Jackim, R. Walsh (1986). "Comparative evaluation of three rapid marine toxicity tests: Sea urchin early embryo growth test, Sea urchin sperm cell toxicity test and Mikrotox." Environ. Toxicol. Chem. 5: 521-525.
- Nacci, D. E., E. Jackim (1985). Rapid Aquatic Toxicity Assay Using Incorporation of Tritiated-Thymidine Into Sea Urchin, *Arbacia punctulata*, Embryo: Evaluation of Toxicant. Aquatic Toxicology and Hazard Assessment, 8th Symposium, ASTM STP 891. D. J. Hansen. Philadelphia, PA: 382-394.
- Phipps, G. L., G. W. Holcombe (1985). "A method for aquatic multiple species toxicant testing: Acute Toxicity of 10 chemicals to 5 vertebrates and 2 invertebrates." Environ. Pollut. Ser. A Ecol. Biol. 38(2): 141-157.
- Price, K. S., G. T. Waggy, R. A. Conway (1974). "Brine shrimp bioassay and seawater BOD of petrochemicals." J. Water Pollution Control Federation 46(1): 63-77.
- Sauvant, M. P., D. Pepin, J. Bohatier, C. A. Groliere (1995a). "Microplate Technique for Screening and Assessing Cytotoxicity of Xenobiotics with *Tetrahymena pyriformis*." Ecotoxicol. Environ. Saf. 32(2): 159-165.
- Sauvant, M. P., D. Pepin, C. A. Groliere, J. Bohatier (1995b). "Effects of Organic and Inorganic Substances on the Cell Proliferation of L-929 Fibroblasts and *Tetrahymena pyriformis* GL Protozoa Used for Toxicological Bioassays." Bull.Environ.Contam.Toxicol. 55(2):171-178 55(2): 171-178.
- Schmidt, C., H. Schnabl (1989). "Structure-Activity-Relationship of Organic Substances and Bioindication (in German)." Vom Wasser 70: 21-32.
- Thurston, R. V., T. A. Gilfoil, E. L. Meyn, R. K. Zajdel, T. I. Aoki, G. D. Veith (1985). "Comparative toxicity of ten organic chemicals to ten common aquatic species." Wat. Res. 19(9): 1145-1155.

Trenel, J., R. Kühn (1982). "Bewertung Wassergefährdender Stoffe im Hinblick auf Lagerung, Umschlag und Transport." Inst. Wasser- Boden- Lufthyg. Bundesgesundheitsamt: 12-14, 25-27, Anlage 2 (23-28), Anlage 4 (1-5).

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,

Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.

Weast, R. C. (1979). Handbook of chemistry and physics. Florida., Boca Raton.

Yalkowsky, S. H., R. M. Dannenfelser (1992). The Aquasol Database of Aqueous Solubility, College of Pharmacy, University of Arizona-Tucson, AZ.



# 1-chloronaphthalène – n°CAS : 90-13-1

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C10-H7-Cl
Etat physique :	liquide gras (HSDB, 2000)
Poids moléculaire :	162.62 g/mol
Densité :	1.194 à 20°C (HSDB, 2000)
Point de fusion :	- 2.5°C (HSDB, 2000)
Point d'ébullition :	259.3°C à 1013.25 hPa (HSDB, 2000)
Pression de vapeur :	3.866 Pa à 25°C (HSDB, 2000)
Solubilité dans l'eau :	17.4 mg/L à 25°C (HSDB, 2000)
Log Kow :	4.0 (HSDB, 2000)
Constante de Henry :	35.97 Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (HSDB, 2000)
Koc :	3038* (PCKOCWIN v.1.66 cité dans US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004) 3000 (HSDB, 2000)

\*valeur calculée

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le 1-chloronaphthalène peut être considéré comme une substance faiblement soluble et modérément volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de ½ vie de 3h et de 6 jours respectivement (HSDB, 2000). Cependant, en considérant le phénomène d'adsorption, le temps de ½ vie passe à 36 jours dans un modèle d'étang (HSDB, 2000). En effet, la valeur élevée du Koc laisse prévoir une forte adsorption du 1-chloronaphthalène sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau.

Compte-tenu de l'importance des phénomènes d'adsorption et, dans une moindre mesure, de volatilisation, des précautions doivent être prises lors de la réalisation des essais d'écotoxicité : il est préférable d'utiliser un système clos en conditions dynamiques. Les résultats d'essai établis à partir de concentrations mesurées seront privilégiés, d'autant plus si le système est statique ou semi-statique.

### 1.2 Persistance

Le 1-chloronaphthalène ne subirait pas d'hydrolyse (HSDB, 2000).

Un étude en milieu aqueux montre une dégradation de 26 % du 1-chloronaphthalène en 20 h par photolyse (longueurs d'onde > à 290 nm). Une photolyse direct du 1-chloronaphthalène serait donc susceptible de se produire dans l'eau (HSDB, 2000).

Aucune donnée sur la biodégradation du 1-chloronaphthalène en milieu aquatique n'est disponible (HSDB, 2000).

### 1.3 Bioaccumulation

Des valeurs de BCF allant de 142 à 338 et de 142 à 403 ont été mesurées chez la carpe exposée pendant 8 semaines à 0.005 mg/l et à 0.05 mg/l de 1-chloronaphthalène respectivement (HSDB, 2000). Ces valeurs suggèrent une bioconcentration modérée.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Micro-organismes</b>	<i>Tetrahymena pyriformis</i>	EC <sub>50</sub> (60 h)	25	3	Schultz <i>et al.</i> , 1983
<b>Algues</b>	<i>Selenestrum capricornutum</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	1.03	3	US-EPA, 1978
	<i>Skeletonema costatum</i> *	EC <sub>50</sub> (96 h)	1.13	3	US-EPA, 1978
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Mysidopsis bahia</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.37	3	US-EPA, 1978
	<i>Artemia salina</i> *	EC <sub>50</sub> (24 h)	0.78	2	Foster and Tullis, 1985
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	< 0.813	3	Bobra <i>et al.</i> , 1983
	<i>Artemia salina</i> *	EC <sub>50</sub> (24 h)	0.91	2	Foster and Tullis, 1984
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1.6	2	LeBlanc, 1980
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1.6	3	US-EPA, 1978
	<i>Artemia salina</i> *	LC <sub>50</sub> (24 h)	1.838	2	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
<b>Mollusques</b>	<i>Mytilus edulis</i> *	EC <sub>50</sub> (40 min)	0.27	3	Donkin <i>et al.</i> , 1989
<b>Poissons</b>	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.69	2	Ward <i>et al.</i> , 1981
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	2.27	3	US-EPA, 1978
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	2.3	3	Buccafusco <i>et al.</i> , 1981
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	2.36	3	US-EPA, 1978
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC <sub>50</sub> (96 h)	2.4	3	Heitmuller <i>et al.</i> , 1981

\*espèces marines

*Au vu du nombre important d'essais réalisés sur des espèces marines, les valeurs obtenues en eau salée seront ici considérées pour évaluer la PNEC aquatique.*

#### Micro-organismes :

Schultz *et al.*, 1983 ont réalisé un essai d'inhibition de croissance sur *Tetrahymena pyriformis* (protozoaire cilié). 4 concentrations d'essai en 5 exemplaires ont été testées. Un groupe témoin

a également été réalisé. Au bout de 60 h d'incubation dans l'obscurité, la  $EC_{50}$  a été déterminée à environ 25 mg/L et correspond à la moyenne entre la  $EC_{100}$  et la NOEC.

*Ce résultat ne sera pas utilisé pour le calcul de la PNECaqua et n'est donné qu'à titre indicatif.*

#### Algues :

Les essais de l'US-EPA, 1978 ne peuvent pas être validés compte-tenu du manque d'information sur les protocoles expérimentaux.

#### Micro-crustacés :

Abernethy *et al.*, 1986 ont testé l'effet du 1-chloronaphthalène en eau salée (30‰) sur un micro-crustacé marin : *Artemia salina* (stade nauplius). Le protocole utilisé est celui décrit dans Wells *et al.*, 1982. L'essai a été réalisé en milieu statique, fermé, à  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , dans l'obscurité, sans aération et sans apport de nourriture. Afin de limiter les pertes de la substance par volatilisation, les récipients d'essai de 33 mL étaient complètement remplis et fermés. La pureté du produit était  $\geq$  à 97%. Au moins 5 concentrations d'essai ont été testées et un groupe témoin a été réalisé. Il a été vérifié que la mortalité dans le groupe témoin ne dépassait pas 10%. Durant le test, l'oxygène dissous n'est pas descendu en dessous de 5 mg/L. Le critère d'effet mesuré était la mortalité (définie par l'absence de mouvements internes et externes de l'animal). Au bout de 24 h, la  $LC_{50}$  a été déterminée à 11.3 mmol/m<sup>3</sup> (soit 1.838 mg/L) à partir des concentrations nominales. Il est également indiqué qu'au bout de 48 heures la  $LC_{50}$  n'était pas significativement différente de celle de 24 heures.

*Des précautions ont été prises pour limiter la perte par volatilisation du produit : les récipients d'essai étaient complètement remplis et fermés. Cependant, l'absence de suivi analytique ne permet pas de prévoir les concentrations effectives du 1-chloronaphthalène. Il faut également noter que les valeurs des concentrations testées et le nombre de réplicats ne sont pas indiqués. Compte-tenu de ces remarques, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

L'essai de Bobra *et al.*, 1983 sur *Daphnia magna* (âgée de 4 à 6 jours, longueur de 1.5 mm) a été réalisé en milieu statique et fermé ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ). La pureté du 1-chloronaphthalène était  $\geq$  à 97%. Aucune nourriture n'a été administrée aux daphnies pendant l'essai. 10 daphnies ont été testées sur 8 concentrations d'essai (solution de 24 mL) en 2, 3 ou 4 réplicats. Un groupe témoin a également été réalisé et il a été vérifié que la mortalité ne dépassait pas 10%. Durant le test une diminution du pH de 7 à 6 et une diminution de l'oxygène dissous de 9 à 5 mg/L ont été mesurées dans le milieu d'essai. Le critère d'effet mesuré était la mortalité définie par une immobilisation totale de l'animal après agitation du récipient d'essai. Au bout de 48 h, la  $EC_{50}$  a été déterminée inférieure à 5 mmol/m<sup>3</sup> (soit  $< 0.813$  mg/L).

*Des mesures particulières ont été prises (les récipients d'essai étaient complètement remplis et fermés) afin de limiter les pertes de la substance par volatilisation. Cependant, l'absence de suivi analytique ne permet pas de prévoir les concentrations effectives du 1-chloronaphthalène. Il faut également noter que l'âge des individus testés est plus important que celui recommandé par la ligne directrice 202 de l'OCDE (24h au maximum). Celle-ci recommande également une température comprise entre 18 et 22°C. Par ailleurs, la  $EC_{50}$  n'étant pas comprise dans l'intervalle des concentrations testées, cet essai ne sera pas pris en compte.*

L'essai de Foster and Tullis, 1984 a été réalisé en eau salée, sur une espèce marine (*Artemia salina*) et dans des conditions de milieu statiques, fermées et aérées. Le critère d'effet mesuré était l'immobilisation. Les organismes, âgés de 30 h, étaient alors au stade II nauplius considéré comme un stade où les variations intra-spécifiques sont faibles. Les nauplius n'ont reçu aucune alimentation pendant l'essai. Les solutions mères ont été préparées dans 125 mL d'eau de mer artificielle (salinité de 32 ‰) avec de l'acétone dont la concentration n'excédait pas 0.24 µl/mL. Deux contrôles ont été réalisés dont un avec 0.24 µl/mL d'acétone. Cinq à

huit concentrations d'essai en triplicata ont été testées et choisies conformément à l'OCDE 202. 25 nauplius ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour les groupes témoins. Les mesures de la salinité, du pH et de l'O<sub>2</sub> dissous au début et à la fin de l'essai ont révélé de très faibles variations : le pH et la concentration en O<sub>2</sub> dissous se sont échelonnés de 8.5 à 8.7 et de 6.5 à 8.1 mg/L respectivement. Un suivi analytique des concentrations a été réalisé durant l'essai n'indiquant pas de pertes significatives du produit. Aucune immobilisation n'a été observée chez les groupes témoins. La EC<sub>50</sub> (24 h) = 0.91 (0.85 – 0.98) mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

*L'essai est bien renseigné. Des mesures particulières ont été réalisées (récipients fermés et complètement remplis, suivi analytique) afin de limiter les pertes du 1-chloronaphthalène et de prévoir ses concentrations effectives. En raison de la courte durée de l'essai et de l'utilisation d'une espèce marine, cet essai est considéré valide sous ces restrictions.*

Le test de Foster and Tullis, 1985 est extrait d'une étude réalisée sur 8 substances en eau salée. L'objectif de l'étude était d'évaluer le lien entre le degré de salinité du milieu, la structure chimique et la toxicité aiguë des substances. Ce test de 24h a été réalisé sur une espèce marine, *Artemia salina*, âgée de 30 h (stade II nauplius) et dans des conditions de milieu statiques, fermées et aérées (19°C). Le critère d'effet mesuré était l'immobilisation. La pureté du 1-chloronaphthalène était > à 98 %. Les solutions mères ont été préparées dans 144 mL d'eau de mer artificielle (ASW) avec de l'acétone dont la concentration n'excédait pas 0.2 ml/L. Les nauplius ont été exposés à 5 concentrations d'essai, choisies conformément à l'OCDE 202, et à deux milieux de salinité différente : l'un à 250 mOsM (25% ASW) et l'autre à 500 mOsM (50% ASW). 25 nauplius ont été utilisés pour chaque concentration d'essai, en 3 réplicats, et pour les groupes témoins. Les mesures de la salinité, du pH et de l'O<sub>2</sub> dissous au début et à la fin du test ont révélé de très faibles variations : le pH et la concentration en O<sub>2</sub> dissous se sont échelonnés de 8.3 à 8.6 et de 7.3 à 8.7 mg/L respectivement. Aucune immobilisation n'a été observée chez les groupes témoins. Les EC<sub>50</sub> (24 h) ont été déterminées à partir des concentrations nominales :

- EC<sub>50</sub> (24 h) = 0.81 (0.68 – 0.96) mg/L dans 25 % ASW
- EC<sub>50</sub> (24 h) = 0.78 (0.72 – 0.85) mg/L dans 50 % ASW

*L'essai est bien renseigné. Néanmoins, il n'est pas indiqué s'il y'a eu un contrôle par rapport au solvant. L'utilisation d'un système clos permet de limiter la perte de substance par volatilisation mais comme les récipients d'essai n'étaient pas complètement remplis (espace libre de 6 mL), il y avait malgré tout une possibilité de perte par volatilisation. L'absence de suivi analytique ne permet pas de prévoir les concentrations effectives du 1-chloronaphthalène. Cependant, les résultats obtenus se rapprochent de la EC<sub>50</sub> obtenue à partir de concentrations mesurées (cf. Foster and Tullis, 1984). La durée de l'essai (24 h) est courte. Compte tenu de l'ensemble de ces remarques, ces résultats sont considérés valides sous restrictions.*

LeBlanc, 1980 a réalisé un essai de toxicité aiguë sur *Daphnia magna* (< 24 h) dans des conditions statiques et fermées (milieu élaboré à partir d'eau reconstituée déionisée, dureté = 173 mg/L de CaCO<sub>3</sub>). La pureté du 1-chloronaphthalène était ≥ à 80%. 5 à 8 concentrations d'essai ont été testées. Au besoin, la solubilisation de la substance a été facilitée par l'ajout d'un solvant et un contrôle a été effectué. Dans ce cas, il n'y a pas eu de réplicat et 15 daphnies ont été utilisées pour chaque concentration d'essai (500 mL de solution dans des récipients d'essai de 2 L) et pour les deux groupes témoins (un avec le solvant et un autre sans). Lorsque l'ajout d'un solvant n'a pas été nécessaire, chaque test a été répliqué en trois exemplaires soit 5 daphnies par récipient d'essai (150 mL de solution dans des récipients d'essai de 250 mL). Les paramètres physico-chimiques du milieu d'essai ont été mesurés au début et à la fin de l'essai, soit 48h après : la température a été maintenue à 22 ± 1°C, le pH et la concentration en O<sub>2</sub> dissous se sont échelonnés de 7.4 à 9.4 et de 6.5 à 9.1 mg/L respectivement. La mortalité a été

enregistrée au bout de 24h et 48h d'exposition. Il a été vérifié que la mortalité dans les deux groupes témoins ne dépassait pas 10%. La  $LC_{50}$  (48 h) = 1.6 (0.97 – 2.6) mg/L, a été déterminée à partir des concentrations nominales. Une NOEC (48 h) < 0.17 mg/L a également été définie.

*L'essai est bien renseigné mis à part l'absence d'informations sur les valeurs des concentrations testées, le choix et la concentration du solvant. L'utilisation d'un système fermé a permis de limiter les pertes de la substance par volatilisation. Cependant, il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations d'essai. Par ailleurs, la variation de pH durant le test est légèrement supérieure à celle recommandée par la ligne directrice 202 de l'OCDE (1.5 unités au maximum) et il est également recommandé de tester chaque concentration d'essai en 4 exemplaires. Sous ces restrictions, cet essai est jugé valide.*

Les essais de l'US-EPA, 1978 ne peuvent pas être validés compte-tenu du manque d'information sur les protocoles expérimentaux.

#### Mollusques :

Donkin *et al.*, 1989 ont expérimenté l'effet du 1-chloronaphthalène sur la prise de nourriture de *Mytilus edulis* (espèce marine). Les moules ont été prélevées dans le milieu naturel et la longueur de leur coquille était comprise entre 40 et 50 mm. Une période d'acclimatation en laboratoire de 7 jours avant le début du test a été accordée aux animaux. De l'eau de mer filtrée à 1 µm et à 33‰ de salinité a été utilisée. La température était de 15 °C. La pureté de la substance était ≥ à 98%. L'acétone a été utilisée comme solvant. 4 concentrations ont été testées au minimum, avec un individu par concentration. Des témoins ont été réalisés (par rapport au milieu seul et par rapport au solvant). L'essai a été réalisé dans des récipients couverts et le mode de contamination était statique. Les organismes étaient nourris avec des algues (*P. tricornutum*) toutes les 20 minutes sur une période de 80 min. L'inhibition de la prise de nourriture a été évaluée en suivant l'évolution de la densité algale au cours du temps : une forte diminution de la densité algale traduit une forte consommation par les moules et une diminution plus modérée traduit une inhibition de leur capacité à se nourrir. La  $EC_{50}$  (40 min) a été déterminée à 0.27 (0.23 – 0.32) mg/L.

*La durée de l'essai est trop courte pour pouvoir prendre en compte ce résultat. Toutefois cette étude suggère une très forte sensibilité de cette espèce au 1-chloronaphthalène.*

#### Poissons :

L'essai de Buccafusco *et al.*, 1981 sur *Lepomis macrochirus* (juvéniles de 0.32 à 1.2 g) a été réalisé dans des conditions statiques (température : 21 - 23°C ; dureté de l'eau : 32 - 48 mg/L de  $CaCO_3$  ; alcalinité : 28 - 34 mg/L de  $CaCO_3$  pH : 6.5 – 7.9). Au besoin, un solvant a été utilisé. Après une période d'adaptation de 48 heures juste avant l'essai, il a été vérifié que la mortalité était inférieure à 5 % (moins de 3%). 10 poissons ont été testés par concentration d'essai et pour chaque groupe témoin (un avec le solvant et un autre sans). La pureté de la substance était ≥ à 80%. La concentration en oxygène dissous est passée de 9,7 mg/L au début de l'essai à 0,3 mg/L après 96 h. Les  $LC_{50}$  sur 24 h et sur 96 h ont été déterminées à 3.7 et 2.3 (2 – 2.7) mg/L respectivement, en fonction des concentrations nominales.

*Selon la ligne directrice 203 de l'OCDE, la concentration en oxygène dissous doit rester supérieure à 60% de la valeur de saturation en air pendant toute la durée de l'essai. De plus, aucune information n'est fournie sur le nombre de réplicats et sur les valeurs des concentrations d'essai utilisées. Cet essai est donc invalide.*

Heitmuller *et al.*, 1981 ont mené un essai dans de l'eau de mer, sur des juvéniles de *Cyprinodon variegatus* (âgés de 14 à 28 jours, longueur de 8 à 15 mm) suivant une méthode standard US-EPA. Les poissons, provenant d'une même population, ont été maintenus en laboratoire dans de l'eau de mer à 10 - 30 ‰ et à une température de 25 – 31°C. Ils étaient nourris

quotidiennement avec des artémies (*Artemia salina*, stade nauplius) jusqu'à ce qu'ils soient utilisés pour l'essai. Après une période d'adaptation de 48 heures juste avant l'essai, il a été vérifié que la mortalité était inférieure à 5 % (moins de 3%) et que les poissons ne présentaient aucun comportement anormal. L'essai a été réalisé en système statique et non aéré, soit dans des récipients d'essai de 4 L qui contenaient 3L de solution d'essai, soit dans des récipients de 19 L avec 15 L de solution d'essai. Au besoin, un solvant a été ajouté à la solution d'essai. La pureté du produit était supérieure à 80%. 10 poissons ont été utilisés par concentration d'essai et pour chaque groupe témoin (un avec le solvant et un autre sans). Il a été vérifié que la mortalité dans les deux groupes témoins ne dépassait pas 10%. La concentration en O<sub>2</sub> dissous était mesurée tous les jours et le pH a été mesuré au début et à la fin de l'essai dans les récipients témoins et dans ceux contenant la concentration d'essai la plus élevée et la plus faible. Aucun suivi analytique des concentrations d'essai n'a été effectué. La mortalité a été enregistrée après 24, 48, 72 et 96 heures et les LC<sub>50</sub> ont été déterminées à partir des concentrations nominales :

- LC<sub>50</sub> (24 h.) = 3.4 (3.2 – 4.4) mg/L
- LC<sub>50</sub> (48 h.) = 2.5 (1.9 – 3.1) mg/L
- LC<sub>50</sub> (72 h.) = 2.4 (1.8 – 3) mg/L
- LC<sub>50</sub> (96 h.) = 2.4 (1.8 – 3) mg/L
- NOEC (96 h.) = 1.2 mg/L

*L'essai est bien renseigné mais aucune mesure particulière n'a été prise pour limiter la perte de la substance par volatilisation: essais statique, il n'est pas précisé si les récipients étaient bouchés, mais ils n'étaient de toute façon pas remplis complètement. Par ailleurs, il n'y a pas eu de suivi analytique. Ce résultat ne sera pas retenu.*

Les essais de l'US-EPA, 1978 ne peuvent pas être validés compte tenu du manque d'information sur les protocoles expérimentaux.

L'essai de Ward *et al.*, 1981 a été réalisé sur des juvéniles de *Cyprinodon variegatus* (âgés de moins de 20 jours) en milieu marin renouvelé (90% de la solution était remplacées toute les 15 à 24 heures). Cet essai est également cité dans l'article de Stuter and Rosen, 1988. Un solvant, du triéthylène glycol ou de l'acétone, a été utilisé. Cinq concentrations d'essai ont été testées et deux contrôles ont également été réalisés (un avec solvant et un autre sans). La photopériode était de 16 heures. La concentration en O<sub>2</sub> dissous, le pH, la salinité et la température étaient mesurés quotidiennement. La mortalité a été enregistrée chaque 24 heures et les réponses anormales des poissons annotées. Les concentrations d'essai ont été mesurées au début et à la fin de l'essai et la LC<sub>50</sub> a été déterminée à partir des concentrations mesurées (0.06 ± 0.01, 0.12 ± 0.03, 0.21 ± 0.06, 0.39 ± 0.16 et 0.79 ± 0.29). la LC<sub>50</sub> a été déterminée graphiquement à 0.69 mg/L.

*Des informations importantes sont manquantes (la qualité de l'eau, le pourcentage de mortalité dans les groupes témoins...) mais l'essai suit une méthode standard US-EPA. La LC50 est exprimée par rapport aux concentrations mesurées par analyse chimique. Cet essai est jugé valide avec restrictions.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Aucune donnée d'écotoxicité chronique n'a été trouvée dans la littérature pour cette substance.

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

On dispose d'essais aigus valides seulement pour deux niveaux trophiques différents (invertébrés et poissons) et aucun essai chronique valide n'a été trouvé dans la littérature. Cependant, une valeur de EC<sub>50</sub> (40 h) = 0.334 mg/L a été validée chez les algues (sur *Nitzschia sp.*) pour un produit commercial composé de divers chloronaphthalènes, l'Halowax 1001 (Murado, 1978 cité dans la fiche PNEC des Chloronaphthalènes). Cette proposition semble protectrice, si on la compare aux valeurs de l'US-EPA, 1978 qui n'ont pas pu être validées (pas d'information dans les rapports). Les plus faibles données de toxicité validées pour le 1 chloronaphthalène pour les crustacés et les poissons sont du même ordre de grandeur (0.78 et 0.69 mg/L respectivement).

Il est proposé de déterminer la PNEC<sub>aqua</sub> en appliquant un facteur d'extrapolation de 1000 sur la EC50 à 0.334 mg/L, soit 0.334/1000 mg/L :

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 0.334 \mu\text{g/L}$$

### 4. BIBLIOGRAPHIE

Abernethy, S., A. M. Bobra, W. Y. Shiu, P. G. Wells, D. MacKay (1986). "Acute lethal toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to two planktonic crustaceans: the key role of organism-water partitioning." *Aquatic Toxicology* 8: 163-174.

Bobra, A. M., W. Y. Shiu, D. Mackay (1983). "A predictive correlation for the acute toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to the water flea (*Daphnia magna*)." *Chemosphere* 12: 1121-1129.

Buccafusco, R. J., S. J. Ells, G. A. LeBlanc (1981). "Acute Toxicity of Priority Pollutants to Bluegill (*Lepomis macrochirus*)." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26(4): 446-452.

Donkin, P., J. Widdows, S. Evans, C. Worrall, M. Carr (1989). "Quantitative Structure-Activity Relationships for the Effect of Hydrophobic Organic Chemicals on Rate of Feeding by Mussels (*Mytilus edulis*)." *Aquat. Toxicol.* 14(3): 277-294.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

Foster, G. D., R. E. Tullis (1984). "A quantitative structure activity relationship between partition coefficients and the acute toxicity of naphthalene derivatives in *Artemia*." *Aquat. Toxicol.* 5(3): 245-254.

Foster, G. D., R. E. Tullis (1985). "Quantitative Structure-Toxicity Relationships with Osmotically Stressed *Artemia salina* nauplii." *Environmental Pollution (Series A)* 38: 273-281.

Heitmuller, P. T., T. A. Hollister, P. R. Parrish (1981). "Acute Toxicity of 54 Industrial Chemicals to Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*)." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27(5): 596-604.

HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.

- LeBlanc, G. A. (1980). "Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*)."  
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 24: 684-691.
- Murado, M. A. (1978). "Interacciones fitoplancton-hidrocarburos aromáticos policlorados. I. Efectos de tres Hallowax sobre el crecimiento, pigmentos fotosintéticos y respiración endógena de *Nitzschia sp.*" Invest.Pesq. 42(2): 273-292.
- Schultz, J. W., J. N. Dumont, F. D. Sankey, R. L. Schmoyer (1983). "Structure Activity Relationships of Selected Naphthalene Derivatives." Ecotoxicology and environmental safety 7: 191-203.
- Stuter, G. W., A. E. Rosen (1988). "Comparative toxicology for risk assessment of marine fishes and crustaceans." Environ. Sci. Technol. 22(5): 548-556.
- US-EPA (1978). In depth studies on health and environmental impacts of selected water pollutants. US-EPA, Contract N° 68-01-4646.
- US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,
- Ward, G. S., P. R. Parrish, R. A. Rigby (1981). "Early life stage toxicity tests with a saltwater fish: effects of eight chemicals on survival, growth and development of sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*)."  
J. Toxicol. Environ. Health 8(1-2): 225-240.
- Wells, P., S. Abernethy, D. Mackay (1982). "Study of oil partitioning of a chemical dispersant using an acute bioassay with marine crustaceans." Chemosphere 11: 1071-1086.

# Les Chloronaphtalènes

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

La série des naphthalènes chlorés (PCN) compte 75 homologues possibles. Les produits commerciaux sont en général des mélanges de plusieurs homologues et vont des liquides de faible viscosité à des solides de température de fusion élevée en passant par des cires dures. Les chloronaphtalènes ont une structure moléculaire proche de celle des PCB et sont de plus en plus employés en industrie comme substituts de ces derniers. Ils sont principalement utilisés pour l'isolation des câbles électriques, pour la conservation du bois, dans les condensateurs, et comme additifs pour les huiles de moteur, les produits de masquage en galvanoplastie, les huiles de référence pour la mesure de l'indice de réfraction et les charges pour la fabrication de colorants (IPCS-INCHEM, 1996).

Les propriétés physico-chimiques de certains et produits commerciaux, pour lesquels des essais écotoxicologiques aquatiques ont été réalisés et/ou des valeurs de facteurs de bioconcentration (BCF) ont été définies, sont présentées dans les tableaux 1 et 2.

La Directive 76/464/CEE distingue le 1-chloronaphtalène des autres isomères. Le 1-chloronaphtalène fait l'objet d'une fiche spécifique.

Les chloronaphtalènes ont des propriétés physicochimiques (volatilité modérée, susceptible de favoriser un transport à longue distance), de persistance (très peu dégradables), de bioaccumulation (très fortement bioaccumulables), et de toxicité (très forte toxicité), qui font que la Commission a proposé d'inclure ces substances sur la liste de la convention de Stockholm des POPs (Polluants Organiques Persistants) (E.C., 2004). Cette proposition de la Commission a été approuvée par le Conseil le 8 septembre 2005.

**Tableau 1 : propriétés physico-chimiques de chloronaphtalènes.**

	2-chloronaphtalène n°CAS : 91-58-7	1,2,3,4 - tetrachloronaphtalène n°CAS : 20020-02-4	Octachloronaphtalène n°CAS : 2234-13-1
<b>Formule brute</b>	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> Cl	C <sub>10</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>4</sub>	C <sub>10</sub> Cl <sub>8</sub>
<b>Etat physique</b>	solide	solide	cristaux
<b>Poids moléculaire (g/mol)</b>	162.62 (HSDB, 2000)	266 (IPCS-INCHEM, 1996)	403.73 (HSDB, 2000)
<b>Densité</b>	1.1377 (HSDB, 2000)	ND**	2 (HSDB, 2000)
<b>Point d'ébullition</b>	256°C à 101.3 kPa (HSDB, 2000)	331.57°C *(1)	440°C à 101.3 kPa (HSDB, 2000)
<b>Point de fusion</b>	59.5°C (HSDB, 2000)	199°C (HSDB, 2000)	185-197°C (HSDB, 2000) 198°C (IPCS-INCHEM, 1996)
<b>Pression de vapeur (Pa)</b>	1.1 (IPCS-INCHEM, 1996)	0.0004 (HSDB, 2000)	1.466 à 25°C (1)
<b>Solubilité (mg/L)</b>	11.7 à 25°C (HSDB, 2000)	0.00426 (HSDB, 2000)	8.10 <sup>-5</sup> à 22°C (HSDB, 2000)

<b>Constante de Henry à 25 °C</b> (Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> )	32.424 (HSDB, 2000)	16,11*/19,66* (1)	4.8* (IPCS-INCHEM, 1996) 4.8-17.3* (1)
<b>Log Kow</b>	3.9 (HSDB, 2000)	5.95 (HSDB, 2000)	8.5 (HSDB, 2000)
<b>Koc</b>	1130* (SRC, 1988) 2976* (1) 3000* (HSDB, 2000)	14010* (1)	106900 * (1)

(1) US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004

\* valeurs calculées

\*\* ND : donnée non disponible

Le 2-chloronaphthalène présente une faible solubilité et les autres substances sont considérées insolubles. La solubilité dans l'eau diminue avec le degré de chloration des chloronaphthalènes. Les valeurs de constante de Henry indiquent un degré de volatilité modéré pour ces trois substances. Une étude de la volatilisation des substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique respectivement des temps de 1/2 vie de 7.2 h et de 6.1 jours pour le 2-chloronaphthalène, de 8.2 h et de 8.7 jours pour l'octachloronaphthalène et de 11 h et 8 jours pour le 1,2,3,4-tetrachloronaphthalène (HSDB, 2000). Cependant, en considérant le phénomène d'adsorption dans un modèle d'étang, le temps de 1/2 vie passe à 38 jours pour le 2-chloronaphthalène et à 11 ans pour le 1,2,3,4-tetrachloronaphthalène (HSDB, 2000). En effet, les valeurs élevées des différents Koc laissent prévoir une forte adsorption de ces trois chloronaphthalènes sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau. D'après IPCS-INCHEM, 1996, les prévisions concernant les coefficients de partage carbone organique/eau dans les sols montrent qu'ils augmentent avec le degré de chloration des chloronaphthalènes : de 2.97 pour les monochloronaphthalènes à 5.38 pour l'octachloronaphthalène.

**Tableau 2 : propriétés physico-chimiques de certains produits commerciaux composés de chloronaphthalènes**

	<b>Halowax 1031</b> n°CAS : 25586-43-0	<b>Halowax 1000</b> n°CAS : 58718-66-4	<b>Halowax 1001</b> n°CAS : 58718-66-4	<b>Halowax 1099</b> n°CAS : 39450-05-0	<b>Halowax 1013</b> n°CAS : 12616-35-2	<b>Halowax 1014</b> n°CAS : 12616-36-3
<b>Composition en chloronaphthalènes (%)</b>	95% mono- 5% di-	60% mono- 40% di-	10% di- 40% tri- 40% tetra- 10% penta-	10% di- 40% tri- 40% tetra- 10% penta-	10% tri- 50% tetra- 40% penta-	20% tetra- 40% penta- 40% hexa-
<b>% de chlore (fonction du poids)</b>	22 (IPCS-INCHEM, 1996)	26 (IPCS-INCHEM, 1996)	50 (IPCS-INCHEM, 1996)	52 (IPCS-INCHEM, 1996)	56 (IPCS-INCHEM, 1996)	62 (IPCS-INCHEM, 1996)
<b>Etat physique</b>	Liquide (HSDB, 2000)	Liquide (HSDB, 2000)	Solide en flocons (HSDB, 2000)	Solide en flocons (HSDB, 2000)	Solide en flocons (HSDB, 2000)	Solide en flocons (HSDB, 2000)
<b>Densité à 25 °C</b>	1.2 (HSDB, 2000)	1.22 (HSDB, 2000)	1.58 (HSDB, 2000)	1.59 (HSDB, 2000)	1.67 (HSDB, 2000)	1.78 (HSDB, 2000)
<b>Point d'ébullition</b>	250°C (IPCS-INCHEM, 1996) 328°C (HSDB, 2000)	250°C (HSDB, 2000)	306°C (HSDB, 2000)	315°C (HSDB, 2000)	250°C (HSDB, 2000) 328°C (IPCS-INCHEM, 1996)	344°C (HSDB, 2000)
<b>Point de fusion</b>	-25°C (HSDB, 2000)	-33°C (HSDB, 2000)	93°C (HSDB, 2000)	102°C (HSDB, 2000)	120°C (HSDB, 2000)	137°C (HSDB, 2000)
<b>Solubilité dans l'eau (mg/L)</b>	Insoluble (HSDB, 2000)	Insoluble (HSDB, 2000)	Insoluble (HSDB, 2000)	Insoluble (HSDB, 2000)	Insoluble (IPCS-INCHEM, 1996)	Insoluble (HSDB, 2000)

Constante de Henry à 25 °C (Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> )	31.9 (IPCS-INCHEM, 1996)	ND*	ND	ND	ND	ND
Log Kow	4.08 (HSDB, 2000)	ND	ND	ND	ND	ND
Koc	3038* (1)	ND	ND	ND	ND	ND

(1) US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)

\* ND : donnée non disponible

Ces produits commerciaux composés de chloronaphthalènes sont donc considérés comme insolubles et, pour le Halowax 1031, modérément volatile. Une étude de la volatilisation du Halowax 1031 dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de 1/2 vie de 7.3 h et de 6 jours respectivement (HSDB, 2000). Cependant, en considérant le phénomène d'adsorption dans un modèle d'étang, le temps de 1/2 vie passe à 60 jours (HSDB, 2000). En effet, comme pour les autres chloronaphthalènes, la valeur élevée du Koc laisse prévoir une forte adsorption sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau.

L'absence de données sur la constante de Henry pour les autres produits ne permet pas de déterminer leur degré de volatilité mais on peut le supposer modéré.

## 1.2 Persistance

Ne possédant pas de groupes fonctionnels hydrolysables, les chloronaphthalènes ne sont pas susceptibles d'être dégradés par hydrolyse. Il est indiqué un temps de 1/2 vie de 8.3 années pour le 2-chloronaphthalène (HSDB, 2000).

Les naphthalènes chlorés absorbent la lumière à des longueurs d'onde >290 nm, une photolyse directe est donc susceptible de se produire dans l'eau (IPCS-INCHEM, 1996 et HSDB, 2000).

La biodégradation des chloronaphthalènes est d'autant plus lente que le degré de chloration est élevé. Des temps de 1/2 vie de 59 et 79 jours sont cités pour le 2-chloronaphthalène. Les naphthalènes tetra, penta et hexa et octachlorés ne sont pas des substances facilement biodégradables (HSDB, 2000).

## 1.3 Bioaccumulation

Des BCF allant jusqu'à 330 mesurés sur des poissons pour l'octachloronaphthalène (0.013 µg/L) et un BCF de 5100 mesuré sur la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, pour le 1,2,3,4-tetrachloronaphthalène (0.0056 µg/L) sont reportés dans Verschueren, 2001. Un BCF de 33 000 a été mesuré chez *Poecilia reticulata* après 7 jours d'exposition au 1,2,3,4-tetrachloronaphthalène en flot continu (HSDB, 2000) suggérant un très fort potentiel de bioaccumulation. D'autres valeurs de BCF sont également indiquées dans IPCS-INCHEM, 1996 et HSDB, 2000 :

- 4266 pour le 2-chloronaphthalène (100-1000 µg/L), valeur mesurée chez *Poecilia reticulata* après 7 j d'exposition
- 6166 pour le 1,8-dichloronaphthalène (10-100 µg/L), valeur mesurée chez *Poecilia reticulata*
- 10965 pour le 2,3-dichloronaphthalène et le 2,7-dichloronaphthalène (10-100 µg/L), mesurée chez *Poecilia reticulata*
- 26915 pour le 1,3,7-trichloronaphthalène (1-100 µg/L), valeur mesurée chez *Poecilia reticulata*

- 330 pour l'octachloronaphthalène (0.013 µg/L), valeur mesurée chez *Oncorhynchus mykiss*
- de 25 à 140 pour les Halowax 1000, 1013 et 1014, valeurs mesurées chez les algues *Chlorococcum sp.* après 24 heures d'exposition.
- 63 pour l' Halowax 1000, 187 pour l' Halowax 1013 et 257 pour l' Halowax 1099, valeurs mesurées chez *Palaemonetes pugio* après 15 jours d'exposition à 40 µg/L.

IPCS-INCHEM, 1996 indique que le niveau de bioaccumulation observé augmente avec le degré de chloration mais que les naphthalènes les plus hautement chlorés (hepta et octachloronaphthalène) ne semblent pas s'accumuler car ils sont très peu absorbés. Il est également ajouté que les naphthalènes chlorés ont fortement tendance à s'accumuler chez les poissons et dans une plus faible mesure chez les crevettes et les algues.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Substance	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Nitzschia sp.*</i>	Halowax 1001 n°CAS : 58718-67-5	EC <sub>50</sub> (40 h.)	0.334	2	Murado, 1978
	<i>Nitzschia sp.*</i>	Halowax 1013 n°CAS : 12616-35-2	EC <sub>50</sub> (40 h.)	0.718	2	Murado, 1978
	<i>Nitzschia sp.*</i>	Halowax 1014 n°CAS : 12616-36-3	EC <sub>50</sub> (40 h.)	1.322	2	Murado, 1978
	<i>Thalassiosira weissflogii*</i>	Halowax 1099 n°CAS : 39450-05-0	EC <sub>56</sub> (144 h.)	100	3	Craigie and Hutzinger, 1975
	<i>Olisthodiscus sp.*</i>	Halowax 1099 n°CAS : 39450-05-0	EC <sub>97</sub> (144 h.)	100	3	Craigie and Hutzinger, 1975
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	EC <sub>50</sub> (96 h.)	> 500	3	US-EPA, 1978
	<i>Skeletonema costatum*</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	EC <sub>50</sub> (96 h.)	> 500	3	US-EPA, 1978
Micro-crustacés	<i>Panaeus aztecus*</i>	Halowax 1014 n°CAS : 12616-36-3	LC <sub>50</sub> (96 h.)	0.0075	4	US-EPA, 1976
	<i>Palaemonetes pugio*</i>	Halowax 1099 n°CAS : 39450-05-0	LC <sub>50</sub> (96 h.)	0.069	2	Green and Neff, 1977
	<i>Palaemonetes pugio*</i>	Halowax 1013 n°CAS : 12616-35-2	LC <sub>50</sub> (96 h.)	0.074	2	Green and Neff, 1977
	<i>Palaemonetes pugio*</i>	Halowax 1014 n°CAS : 12616-36-3	LC <sub>50</sub> (96 h.)	0.248	4	US-EPA, 1976
	<i>Palaemonetes pugio*</i>	Halowax 1000 n°CAS : 58718-66-4	LC <sub>50</sub> (96 h.)	0.325	2	Green and Neff, 1977
	<i>Daphnia magna</i>	Halowax 1031 n°CAS : 25586-43-0	EC <sub>50</sub> (24 h.)	0.6	4	Trenel and Kühn, 1982
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloronaphthalène n°CAS : 91-58-7	EC <sub>50</sub> (48 h.)	1.642	2	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Artemia salina*</i>	2-chloronaphthalène n°CAS : 91-58-7	LC <sub>50</sub> (24 h.)	2.325	2	Abernethy <i>et al.</i> , 1986
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloronaphthalène n°CAS : 91-58-7	EC <sub>50</sub> (48 h.)	3.74	2	Bobra <i>et al.</i> , 1983
	<i>Mysidopsis bahia*</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 500	3	US-EPA, 1978
	<i>Daphnia magna</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (48 h.)	> 530	3	LeBlanc, 1980

	<i>Daphnia magna</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (48 h.)	> 530	3	US-EPA, 1978
<b>Poissons</b>	<i>Mugil cephalus</i> *	Halowax 1014 n°CAS : 12616-36-3	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 0.263	4	US-EPA, 1976
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	Halowax 1014 n°CAS : 12616-36-3	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 0.343	4	US-EPA, 1976
<b>Poissons</b>	<i>Ictalurus punctatus</i> <i>Pimephales promelas</i>	Halowax 1099 n°CAS : 39450-05-0	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 100	3	Mayer and Ellersieck, 1986
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 560	3	Heitmuller <i>et al.</i> , 1981
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 560	3	US-EPA, 1978
	<i>Lepomis macrochirus</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 600	3	Buccafusco <i>et al.</i> , 1981
	<i>Lepomis macrochirus</i>	Octachloronaphthalène n°CAS : 2234-13-1	LC <sub>50</sub> (96 h.)	> 600	3	US-EPA, 1978

\* espèces marines

*Au vu du nombre important d'essais réalisés sur des espèces marines, les valeurs obtenues en eau salée seront ici considérées pour évaluer la PNEC aquatique.*

#### Algues :

Craigie and Hutzinger, 1975 ont réalisé des essais de toxicité de l'Halowax 1099 sur deux espèces de phytoplancton marin, *Thalassiosira weissflogii* et *Olisthodiscus sp.* Les conditions du milieu étaient : 20°C, photopériode de 12 h) et les récipients fermés. Les solutions mères ont été préparées dans 30 mL d'eau de mer naturelle avec de l'acétone. Deux concentrations d'essai ont été testées en duplicata accompagnées d'un contrôle également dupliqué. Pour chaque culture d'algues, les récipients d'essai (flacon de 125 mL) contenaient initialement 1 mL de la culture âgée de 3 à 4 jours. Les flacons étaient remués deux fois par jour. Au bout de 6 jours (144 heures) l'inhibition de la croissance a été déterminée en mesurant la turbidité dans chaque flacon d'essai et en la comparant à celle obtenue dans les contrôles. Une EC<sub>56</sub> (144 h) = 100 mg/L et une EC<sub>97</sub> (144 h) = 100 mg/L ont été respectivement déterminées pour *T. weissflogii* et pour *Olisthodiscus sp.*

*Ces essais sont peu détaillés. Aucune indication sur les variations de la qualité de l'eau au cours du test et sur la réalisation d'un contrôle solvant n'est fournie. L'utilisation d'un système fermé a permis de limiter les pertes du produit par volatilisation mais, l'absence de suivi analytique ne permet pas de prévoir les concentrations effectives de l'Halowax 1099 étant donné sa forte hydrophobicité et son caractère insoluble. De plus, selon la ligne directrice 201 de l'OCDE, la détermination de l'inhibition de la croissance par rapport à la culture témoin se fait en mesurant toutes les 24 heures la concentration cellulaire dans chaque récipient d'essai, ce qui n'a pas été réalisé. Il n'est également pas possible de vérifier si les algues étaient en phase exponentielle de croissance durant le test. Il faut également noter que seulement deux concentrations ont été testées. Par conséquent, ces deux essais ne sont pas valides.*

Murado, 1978 a testé la toxicité de trois produits commerciaux composés de chloronaphthalènes (Halowax 1001, 1013 et 1014) sur la croissance de *Nitzschia sp.*, en eau salée. La densité initiale était de  $1,5 \cdot 10^4$  cellules/mL, et il a été vérifié que les diatomées étaient en phase de croissance exponentielle. Un système d'essai aéré et agité a été utilisé. La température a été maintenue à  $16 \pm 2$  °C. Une illumination constante de 2500 lux a été fournie par des tubes fluorescents. L'acétone a été utilisée comme solvant et des contrôles solvant ont été réalisés. Quatre concentrations en duplicata ont été testées : 0.08, 0.25, 0.8 et 2 mg/L pour les Halowax 1001 et 1013 ; 0.25, 0.8, 2 et 4 mg/L pour l'Halowax 1014. La densité cellulaire a été déterminée par mesure de la densité optique (absorbance à 750 nm) après 40 heures d'exposition. Par extrapolation des données graphiques, il a été vérifié que la concentration

cellulaire des témoins était plus de 16 fois supérieure à la densité initiale au bout de trois jours. Les EC<sub>50</sub> (40 h), déterminées à partir des concentrations nominales, ont été établies à 0.334 mg/L pour l'Halowax 1001, à 0.718 mg/L pour l'Halowax 1013 et à 1.322 mg/L pour l'Halowax 1014.

*Il n'y a pas d'information sur d'éventuelles mesures pour limiter les pertes de produits. L'absence de suivi analytique ne permet pas de prévoir les concentrations effectives des produits testés. Le pH n'est pas indiqué. La durée du test est faible par rapport à celle généralement recommandée (72 h). La faible durée du test et les éventuelles pertes de substances tendraient à sous-estimer la toxicité, mais on retiendra malgré tout ces données, qui sont les plus faibles valeurs disponibles pour les algues.*

Les essais de l'US-EPA, 1978 ne peuvent être validés compte tenu du manque d'information sur les protocoles expérimentaux.

#### Micro-crustacés :

Abernethy *et al.*, 1986 ont testé l'effet du 2-chloronaphthalène sur *Daphnia magna* (âgée de 4 à 6 jours). Le protocole expérimental utilisé est celui décrit dans Bobra *et al.*, 1983 (exposé plus bas). Les essais ont été réalisés en milieu statique, fermé, à 23 ± 2°C, dans l'obscurité, sans aération et sans apport de nourriture. Afin de limiter les pertes de la substance par volatilisation, les récipients d'essai de 33 mL étaient complètement remplis et fermés. La pureté de la substance était ≥ à 97%. Au moins 5 concentrations d'essai ont été testées et un groupe témoin a été réalisé. Il a été vérifié que la mortalité dans le groupe témoin ne dépassait pas 10%. Durant le test, l'oxygène dissous n'est pas descendu en dessous de 5 mg/L. Le critère d'effet mesuré était la mortalité définie par l'immobilité totale de l'animal. Au bout de 48 h, la EC<sub>50</sub> a été déterminée à 10.1 mmol/m<sup>3</sup> (soit 1.642 mg/L) à partir des concentrations nominales.

*Les valeurs des concentrations testées et le nombre de réplicats ne sont pas indiqués. Des précautions ont été prises pour limiter la perte par volatilisation du produit : les récipients d'essai étaient complètement remplis et fermés. Selon la ligne directrice 202 de l'OCDE, les individus testés sont trop âgés et la température supérieure à celle recommandée. Mais il a été vérifié que la mortalité n'excédait pas 10% parmi les témoins. Cet essai est donc considéré valide avec restrictions.*

Abernethy *et al.*, 1986 a également réalisé un essai sur la toxicité aiguë du 2-chloronaphthalène en eau salée (30‰) sur un micro-crustacé marin : *Artemia salina* (stade nauplius). Le protocole expérimental est celui décrit dans Wells *et al.*, 1982 et suit celui utilisé pour *Daphnia magna* (décrit plus haut) avec quelques différences dont l'âge des organismes (< 24 h) et la température qui était de 20 ± 1°C. Au bout de 24 h, la LC<sub>50</sub> a été déterminée à 14.3 mmol/m<sup>3</sup> (soit 2.325 mg/L) à partir des concentrations nominales. Il est également indiqué qu'au bout de 48 heures la LC<sub>50</sub> mesurée n'était pas significativement différente de celle de 24 heures.

*Compte-tenu de l'absence de suivi analytique et de l'utilisation d'une espèce marine, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

L'essai de Bobra *et al.*, 1983 sur la toxicité aiguë du 2-chloronaphthalène vis-à-vis de *Daphnia magna* (âgée de 4 à 6 jours, longueur de 1.5 mm) a été réalisé en milieu statique, fermé, non aéré et à une température de 23 ± 2°C. La pureté du 2-chloronaphthalène était ≥ à 97%. Aucune nourriture n'a été administrée aux daphnies pendant l'essai. 10 daphnies ont été testées sur 8 concentrations d'essai (solution de 24 mL) en 2, 3 ou 4 réplicats. Un groupe témoin a également été réalisé et il a été vérifié que la mortalité ne dépassait pas 10%. Durant le test une diminution du pH de 7 à 6 et une diminution de l'oxygène dissous de 9 à 5 mg/L ont été mesurées dans le milieu d'essai. Le critère d'effet mesuré était la mortalité définie par une absence visible de mouvements internes et externes de l'animal. Au bout de 48 h, la EC<sub>50</sub>

= 23 (9 – 54) mmol/m<sup>3</sup> soit 3.74 (1.464 – 8.781) mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*Les récipients d'essai étaient fermés afin de limiter les pertes de la substance par volatilisation. Cependant, il n'y a pas eu de suivi analytique. Il faut également noter que l'âge des individus testés est plus important que celui recommandé par la ligne directrice 202 de l'OCDE (24h au maximum). Celle-ci recommande également une température comprise entre 18 et 22°C. Toutefois, il a été vérifié que la mortalité ne dépassait pas 10% parmi les témoins. Cet essai est donc considéré comme valide avec restrictions.*

Green and Neff, 1977 ont testé la toxicité de trois produits commerciaux, l'Haloxaw 1001, 1013 et 1099, sur *Palaemonetes pugio* en eau salée. Les individus ont été maintenus dans les mêmes conditions de culture que celles appliquées au cours des essais (19-24°C, eau de mer artificielle à 20‰, pH de 8 à 8.4 indiqué dans la base de données AQUIRE) pendant au moins une semaine avant le début des essais. Des post-larves (5 à 7 mm de longueur) et des adultes ont été exposés pendant 96 heures à des concentrations allant de 0.01 à 0.45 mg/L. 10 individus ont été testés par concentration d'essai. Des récipients d'essais de 500 mL et de 4 L ont été utilisés pour les post-larves et les adultes respectivement. Le mode de contamination était semi-statique avec un renouvellement journalier des solutions d'essais. De l'acétone a été utilisée et un contrôle avec ce solvant a été réalisé. Les concentrations ont été mesurées au début des essais et avant chaque renouvellement des solutions indiquant une perte significative des substances : au bout de 24 heures, les concentrations descendaient à 1/3 de leur valeur nominale. La mortalité a été enregistrée tous les jours. Des LC<sub>50</sub> sur 72 h et 96 h ont ainsi été déterminées pour les trois produits testés :

Halowax 1000	→ post-larves : LC <sub>50</sub> (96 h) = 0.44 mg/L → adultes : LC <sub>50</sub> (72 h) = 0.37 mg/L ; LC <sub>50</sub> (96 h) = 0.325 mg/L
Halowax 1013	→ post-larves : LC <sub>50</sub> (72 h) = 0.13 mg/L ; LC <sub>50</sub> (96 h) = 0.074 mg/L
Halowax 1099	→ post-larves : LC <sub>50</sub> (72 h) = 0.075 mg/L ; LC <sub>50</sub> (96 h) = 0.069 mg/L → adultes : LC <sub>50</sub> (72 h) = 0.132 mg/L ; LC <sub>50</sub> (96 h) = 0.09 mg/L

Il est indiqué que *Palaemonetes pugio* aurait une plus grande capacité à la détoxification et à l'excrétion des PCN qui ont un faible degré de chloration.

*Le protocole expérimental est globalement satisfaisant mis à part un certain nombre d'informations qui sont manquantes : la concentration en O<sub>2</sub> dissous, le nombre de réplicats et de concentrations testées, les effets constatés chez les témoins. Un système semi-statique a été utilisé, mais il n'est pas indiqué si le système d'essai était fermé. Cependant, l'utilisation d'un système semi-statique Un suivi analytique a été réalisé et a permis de mettre en évidence une perte importante de produit. Mais les LC50 ont été exprimées en terme de ces concentrations mesurées. Compte tenu de ces remarques, les résultats obtenus à 96 heures et pour le stade de vie le plus sensible seront donc néanmoins utilisés.*

LeBlanc, 1980 a réalisé un essai de toxicité aiguë de l'octachloronaphthalène sur *Daphnia magna* (<24 h) dans des conditions statiques et fermées (milieu élaboré à partir d'eau reconstituée déionisée, dureté = 173 mg/L de CaCO<sub>3</sub>). La pureté de la substance était ≥ à 80%. 5 à 8 concentrations d'essai ont été testées. Au besoin, la solubilisation de la substance a été facilitée par l'ajout d'un solvant et un contrôle a été effectué. Dans ce cas, il n'y a pas eu de réplicat et 15 daphnies ont été utilisées pour chaque concentration d'essai (500 mL de solution dans des récipients d'essai de 2 L) et pour les deux groupes témoins (un avec le solvant et un autre sans). Lorsque l'ajout d'un solvant n'a pas été nécessaire, chaque test a été répliqué en trois exemplaires soit 5 daphnies par récipient d'essai (150 mL de solution dans des récipients d'essai de 250 mL). Les paramètres physico-chimiques du milieu d'essai ont été mesurés au début et à la fin de l'essai, soit 48 h après : la température a été maintenue à 22 ± 1°C, le pH et la concentration en O<sub>2</sub> dissous se sont échelonnés de 7.4 à 9.4 et de 6.5 à 9.1 mg/L respectivement. La mortalité a été enregistrée au bout de 24 h et 48 h d'exposition et les LC<sub>50</sub>

ont été déterminées à partir des concentrations nominales. Il a été vérifié que la mortalité dans les deux groupes témoins ne dépassait pas 10%. Au bout de 48 heures d'exposition, aucune mortalité significative n'a été enregistrée pour la plus forte concentration d'essai testée et une  $LC_{50}$  (48 h) > 530 mg/L a donc été déterminée. Une NOEC (48 h) = 530 mg/L a également été définie.

*L'essai est bien décrit mais cet essai ne permet pas de déterminer une valeur de  $LC_{50}$  (48 h), celle-ci étant au-delà des concentrations testées. Il est indiqué qu'un solvant a été utilisé, mais les concentrations n'ayant pas été mesurées, il n'est pas possible de s'assurer que la substance (intrinsèquement insoluble dans l'eau) était bien dissoute pour une concentration totale de 530 mg/L, ou si la limite de solubilité était dépassée. Ce résultat n'est donc pas jugé utilisable.*

L'essai de toxicité aiguë de l'Halowax 1031 sur *Daphnia magna* réalisé par Trenel and Kühn, 1982, est cité dans la base de données AQUIRE, mais la publication originale n'a pas pu être consultée. Deux  $EC_{50}$  (24 h) sont indiquées : la première égale à 0.6 mg/L et la deuxième égale à 3.2 mg/L.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport il n'a pas été possible de juger de la validité de cet essai.*

US-EPA, 1976 a réalisé des essais de toxicité aiguë de l'Halowax 1014 en eau salée sur deux espèces de micro-crustacés marins, *Palaemonetes pugio* et *Penaeus aztecus*. Les  $LC_{50}$  (96 h) obtenues sont de 0.0075 mg/L pour *Penaeus aztecus* et de 0.248 mg/L pour *Palaemonetes pugio*.

*Les rapports originaux n'ont pas pu être consultés. Il n'est donc pas possible de valider ces résultats. Ils ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

Les essais de l'US-EPA, 1978 ne peuvent être validés compte-tenu du manque d'information sur les protocoles expérimentaux.

#### Poissons :

L'essai de Buccafusco *et al.*, 1981 sur la toxicité de l'octachloronaphthalène vis-à-vis de *Lepomis macrochirus* (juvéniles de 0.32 – 1.2 g) a été réalisé dans des conditions (température : 21 - 23°C ; dureté de l'eau : 32 - 48 mg/L  $CaCO_3$  ; alcalinité : 28 - 34 mg/L  $CaCO_3$  ; pH : 6.5 – 7.9) statiques et fermées. Au besoin, un solvant a été utilisé. Après une période d'adaptation de 48 heures juste avant l'essai, il a été vérifié que la mortalité était inférieure à 5 % (moins de 3%). 10 poissons ont été testés par concentration d'essai et pour chaque groupe témoin (un avec le solvant et un autre sans). La pureté de la substance était  $\geq$  à 80%. La concentration en oxygène dissous est passée de 9,7 mg/L au début de l'essai à 0,3 mg/L après 96 h. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité significative n'a été enregistrée pour la plus forte concentration d'essai testée et les  $LC_{50}$  sur 24 et 96 heures ont donc été déterminées supérieures à 600 mg/L à partir des concentrations nominales.

*Selon la ligne directrice 203 de l'OCDE, la concentration en oxygène dissous doit restée supérieure à 60% de la valeur de saturation en air pendant toute la durée de l'essai. De plus, le protocole expérimental ne permet pas de déterminer une valeur de  $LC_{50}$  sur 96 h. Le résultat est donc jugé invalide.*

Heitmuller *et al.*, 1981 ont mené un essai de toxicité aiguë de l'octachloronaphthalène dans de l'eau de mer, sur des juvéniles de *Cyprinodon variegatus* (âgés de 14 à 28 jours, longueur de 8 à 15 mm). Les poissons, provenant d'une même population, ont été maintenus en laboratoire dans de l'eau de mer à 10 - 30 ‰ et à une température de 25 – 31°C. Ils étaient nourris quotidiennement avec des artémies (*Artemia salina*, stade nauplius) jusqu'à ce qu'ils soient utilisés pour l'essai. Après une période d'adaptation de 48 heures juste avant l'essai, il a été vérifié que la mortalité était inférieure à 5 % (moins de 3%) et que les poissons ne présentaient

aucun comportement anormal. L'essai a été réalisé en système statique et non aéré, soit dans des récipients d'essai de 4 L qui contenaient 3 L de solution d'essai, soit dans des récipients de 19 L avec 15 L de solution d'essai. Au besoin, un solvant a été ajouté à la solution d'essai. La pureté du produit était supérieure à 80%. 10 poissons ont été utilisés par concentration d'essai et pour chaque groupe témoin (un avec le solvant et un autre sans). Il a été vérifié que la mortalité dans les deux groupes témoins ne dépassait pas 10%. La concentration en O<sub>2</sub> dissous était mesurée tous les jours et le pH a été mesuré au début et à la fin de l'essai dans les récipients témoins et dans ceux contenant la concentration d'essai la plus élevée et la plus faible. Aucun suivi analytique des concentrations d'essai n'a été effectué. La mortalité a été enregistrée après 24, 48, 72 et 96 heures et les LC<sub>50</sub> ont été déterminées à partir des concentrations nominales :

- LC<sub>50</sub> (24 h.) > 560 mg/L
- LC<sub>50</sub> (48 h.) > 560 mg/L
- LC<sub>50</sub> (72 h.) > 560 mg/L
- LC<sub>50</sub> (96 h.) > 560 mg/L
- NOEC (96 h.) = 560 mg/L

*L'essai est bien renseigné mais aucune mesure particulière n'a été prise pour limiter la perte de la substance par volatilisation: essais statique, il n'est pas précisé si les récipients étaient bouchés, mais ils n'étaient de toute façon pas remplis complètement. Par ailleurs, il n'y a pas eu de suivi analytique. Cet essai ne permet pas de déterminer une valeur de LC<sub>50</sub> sur 96 h n'étant pas comprise dans l'intervalle des concentrations testées. L'essai est donc jugé invalide.*

L'essai de Mayer and Ellersieck, 1986 sur la toxicité aiguë de l'Halowax 1099 vis-à-vis de deux espèces de poissons, *Ictalurus punctatus* (0.8 g) et *Pimephales promelas* (0.7 g), est cité dans Johnson and Finley, 1980. Pour les deux espèces, les LC<sub>50</sub> (96 h) ont été déterminées supérieures à 100 mg/L.

*L'essai ne permet pas de déterminer une valeur fixe de LC<sub>50</sub> (96 h). Ce résultat ne sera donc pas retenu.*

US-EPA, 1976 a réalisé des essais de toxicité aiguë de l'Halowax 1014 en eau salée sur deux espèces marines, *Mugil cephalus* et *Cyprinodon variegatus*. Les LC<sub>50</sub> (96 h) ont été déterminées supérieures à 0.263 mg/L pour *Mugil cephalus* et à 0.343 mg/L pour *Cyprinodon variegatus*.

*Les rapports originaux n'étant pas disponibles, il n'a pas été possible de vérifier ces résultats, qui ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

Les essais de l'US-EPA, 1978 ne peuvent être validés compte-tenu du manque d'information sur les protocoles expérimentaux.

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Substance	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Dunaliella tertiolecta</i> *	Halowax 1000 n°CAS : 58718664	NOEC (168 h)	< 0.1	3	Walsh <i>et al.</i> , 1977
	<i>Chlorococcum sp.</i> * <i>Nitzschia sp.</i> * <i>T. pseudonata</i> *	Halowax 1000 n°CAS : 58718664	NOEC (168 h)	0.1	3	Walsh <i>et al.</i> , 1977
	<i>Thalassiosira weissflogii</i> *	Halowax 1099 n°CAS : 39450050	NOEC (144 h)	1	3	Craigie and Hutzinger, 1975
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	Halowax 1031 n°CAS : 25586430	EC <sub>03</sub> (168 h.) histologie	>10	4	Trenel and Kühn, 1982

\*espèces marines

#### Algues :

L'essai de Craigie and Hutzinger, 1975 a été réalisé sur une espèce marine, *Thalassiosira weissflogii* (diatomée) dans les mêmes conditions que celles réalisées pour l'essai de toxicité aiguë (cf. partie 2.1). Les conditions du milieu étaient: 20°C, photopériode de 12 h et les récipients étaient fermés. Le produit d'essai était l'Halowax 1099. Les solutions mères ont été préparées dans 30 mL d'eau de mer naturelle avec de l'acétone. Deux concentrations d'essai ont été testées en duplicata accompagnées d'un contrôle également dupliqué. Les récipients d'essai (flacon de 125 mL) contenaient initialement 1 mL de la culture d'algues âgées de 3 à 4 jours. Les flacons étaient remués deux fois par jour. Au bout de 6 jours (144 heures) l'inhibition de la croissance a été déterminée en mesurant la turbidité dans chaque flacon d'essai et en la comparant à celle obtenue dans les contrôles. Une NOEC (144 h) = 1 mg/L a été déterminée.

*Cet essai est peu renseigné et certaines informations fournies sur le protocole expérimental n'apparaissent pas satisfaisantes (cf. partie 2.1). Il n'est donc pas jugé valide.*

L'essai de toxicité aiguë de l'Halowax 1031 sur l'histologie de *Scenedesmus subspicatus* réalisé par Trenel and Kühn, 1982, est cité dans la base de données AQUIRE, mais n'a pas été consulté dans la publication originale. Une EC<sub>03</sub> (168 h) > 10 mg/L a été déterminée.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport il n'a pas été possible de juger de la validité de l'essai.*

Walsh *et al.*, 1977 ont testé en eau salée la toxicité de trois produits commerciaux, l'Halowax 1000, 1013 et 1014, sur la croissance d'algues marines unicellulaires (*Dunaliella tertiolecta*, *Chlorococcum sp.*, *Nitzschia sp.* et *Thalassiosira pseudonana*). Chaque culture a été exposée, pendant 7 jours, à trois concentrations d'essai (0.1, 0.5 et 1 mg/L) dans des conditions de milieu: salinité de 30 ‰, température de 20 ± 0.5°C. Une illumination de 12 heures par jour à 5000 lux a été fournie par des tubes fluorescents. Les solutions mères ont été préparées dans 0.1 mL d'acétone. Un contrôle solvant a été réalisé. Deux modes opératoires ont été réalisés : soit 0.5 mL de la suspension algale (densité optique = 0.1 à 525 nm) était ajoutée à 24.5 mL de la solution d'essai, soit 1 mL de la suspension algale était ajoutée à 49 mL de la solution d'essai. Dans la première méthode, la biomasse a été déterminée chaque jour par mesure de la densité optique (à 525 nm) alors que dans la dernière méthode, elle n'a été mesurée qu'à la fin du test. Les résultats obtenus correspondent à des pourcentages de croissance par rapport à la culture témoin. Au bout de 7 jours, il a été observé que le composé le moins chloré, l'Halowax 1000, était le plus toxique avec une NOEC déterminée à 0.1 mg/L chez *Chlorococcum sp.*, *Nitzschia sp.* et *Thalassiosira pseudonana*. Cependant, la plus forte concentration testée n'a pas inhibé plus de 50 % de la croissance algale. Chez *Dunaliella tertiolecta*, les trois concentrations d'Halowax 1000 testées ont eu un effet significatif sur la croissance, une NOEC < 0.1 mg/L peut donc être proposée.

*Un certain nombre de données cruciales sont manquantes (la concentration cellulaire initiale et dans les cultures témoins à la fin du test, le pH). Il n'est pas indiqué si un contrôle du milieu sans acétone a été fait de même que la réalisation de réplicats n'est pas mentionnée. Il n'y a pas eu de suivi analytique. La durée du test ne permet pas de s'assurer que les cultures d'algues étaient en phase exponentielle de croissance. Compte tenu de l'ensemble de ces remarques, cet essai n'est pas jugé utilisable.*

### **3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>**

Il n'y a pas suffisamment d'éléments pour mettre en évidence une différence de toxicité entre les différents chloronaphtalènes (mais on dispose d'éléments pour conclure que la dangerosité,

aussi bien en terme de persistance que de potentiel de bioaccumulation, augmente avec le nombre d'atomes de chlore). De même on dispose principalement de données sur des mélanges. L'évaluation proposée reste donc très incertaine.

On dispose d'essais aigus valides seulement pour deux niveaux trophiques différents (algues et invertébrés) et aucun essai chronique valide n'a été trouvé. Cependant, une valeur de  $LC_{50}$  (96 h) = 0.69 mg/L a été validée chez les poissons (sur *Cyprinodon variegatus*) pour le 1-chloronaphthalène (Ward *et al.*, 1981 cité dans la fiche PNEC du 1-chloronaphthalène – n°CAS : 90-13-1). En intégrant cette valeur dans le jeu de données, une  $PNEC_{aqua}$  peut être proposée en appliquant un facteur 1000 sur le résultat le plus faible obtenu pour l'Halowax 1099 sur *Palaemonetes pugio*, avec une valeur de  $LC_{50}$  sur 96 heures égale à 0.069 mg/L, soit  $PNEC_{aqua} = 0.069/1000$  mg/L,

$$PNEC_{aqua} = 0.069 \mu\text{g/L}$$

#### 4. BIBLIOGRAPHIE

Abernethy, S., A. M. Bobra, W. Y. Shiu, P. G. Wells, D. MacKay (1986). "Acute lethal toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to two planktonic crustaceans: the key role of organism-water partitioning." *Aquatic Toxicology* 8(3): 163-174.

AQUIRE AQUatic toxicity Information REtrieval, US-EPA, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, MN.

Bobra, A. M., W. Y. Shiu, D. Mackay (1983). "A predictive correlation for the acute toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to the water flea (*Daphnia magna*)." *Chemosphere* 12(9-10): 1121-1129.

Buccafusco, R. J., S. J. Eells, G. A. LeBlanc (1981). "Acute Toxicity of Priority Pollutants to Bluegill (*Lepomis macrochirus*)." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26(4): 446-452.

Craigie, J. S., O. Hutzinger (1975). "Effects of Commercial Chlorinated Hydrocarbons and Specific Chlorobiphenyls on the Growth of Seven Species of Marine Phytoplankton." *Chemosphere* 4(3): 139-144.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

E.C. (2004). Proposal for a Council Decision concerning proposals, on behalf of the European Community and the Member States, for amendments to Annexes I - III of the 1998 Protocol to the 1979 Convention on Long range Transboundary Air Pollution on Persistent Organic Pollutants and to Annexes A - C of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. COM(2004) 537.

Green, F. A. J., J. M. Neff (1977). "Toxicity, Accumulation, and Release of Three Polychlorinated Naphthalenes (Halowax 1000, 1013, and 1099) in Postlarval and Adult Grass Shrimp." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 17(4): 399-407.

Heitmüller, P. T., T. A. Hollister, P. R. Parrish (1981). "Acute Toxicity of 54 Industrial Chemicals to Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*)." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27(5): 596-604.

- HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.
- IPCS-INCHEM (1996). Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations, International Programme on Chemical Safety. 2004.
- Johnson, W. W., M. T. Finley (1980). Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. Washington, DC, Resource publication 137.
- LeBlanc, G. A. (1980). "Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*)."  
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 24(5): 684-691.
- Mayer, F. L. J., M. R. Ellersieck (1986). Manual of Acute Toxicity: Interpretation and Data Base for 410 Chemicals and 66 Species of Freshwater Animals. U.S. Dep. Interior, Fish Wildl. Serv., Resour. Publ. No. 160.
- Murado, M. A. (1978). "Interacciones fitoplancton-hidrocarburos aromáticos policlorados. I. Efectos de tres Hallowax sobre el crecimiento, pigmentos fotosintéticos y respiración endógena de *Nitzschia sp.*" Invest. Pesq. 42(2): 273-292.
- SRC (1988). Syracuse Research Corporation Calculated Values.
- Trenel, J., R. Kühn (1982). "Bewertung Wassergefährdender Stoffe im Hinblick auf Lagerung, Umschlag und Transport." Inst. Wasser- Boden- Lufthyg. Bundesgesundheitsamt: 12-14, 25-27, Anlage 2 (23-28), Anlage 4 (1-5).
- US-EPA (1976). Semi-Annual Report. April -September 1976. U.S.EPA, Gulf Breeze, FL,.
- US-EPA (1978). In depth studies on health and environmental impacts of selected water pollutants. US-EPA, Contract N° 68-01-4646.
- US-EPA, Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,.
- Verschuere, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.
- Walsh, G. E., K. A. Ainsworth, L. Faas (1977). "Effects and Uptake of Chlorinated Naphthalenes in Marine Unicellular Algae." Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18(3): 297-302.
- Wells, P., S. Abernethy, D. Mackay (1982). "Study of oil partitioning of a chemical dispersant using an acute bioassay with marine crustaceans." Chemosphere 11: 1071-1086.

# 4-chloro-2-nitrotoluène – n°CAS : 89-59-8

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C7-H6-Cl-N-O <sub>2</sub>
Poids moléculaire :	171.58 g/mol
Point de fusion :	38 °C (US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Point d'ébullition :	242 °C (US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Pression de vapeur :	4.08* Pa à 25 °C (MPBPWIN v.1.41 in US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Solubilité dans l'eau :	61.18* mg/L à 25°C (WSKOW v.1.41 in US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Log Kow :	3.05 (US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Constante de Henry :	1.763* (« Bond Method ») et 4.114* (« Group Method ») Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25°C (HENRYWIN v.3.10 in US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Koc :	511* (PCKOCWIN v.1.66 in US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)

\* valeurs calculées

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le 4-chloro-2-nitrotoluène peut être considéré comme une substance soluble et modérément volatile. Une étude de la volatilisation de la substance (constante de Henry utilisée = 4.114 Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>) dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de ½ vie de 20.23 heures et de 13.77 jours respectivement (US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004).

### 1.2 Persistance

Aucune donnée sur l'hydrolyse du 4-chloro-2-nitrotoluène n'a pu être trouvée dans la littérature.

De même, aucune donnée sur sa dégradation par photolyse dans l'eau n'est disponible.

L'estimation de la biodégradation du 4-chloro-2-nitrotoluène par l'US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004 indique que cette substance n'est pas facilement biodégradable.

### 1.3 Bioaccumulation

Une valeur de BCF = 44.51, estimée à partir du Log Kow (3.05), suggère un potentiel de bioconcentration modéré du 4-chloro-2-nitrotoluène dans les organismes aquatiques (BCFWIN v.2.15 cité dans US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004).

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (96 h)	6 (5.2 – 6.9)	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (48 h)	10	2	Kühn and Pattard 1990
	<i>Haematococcus pluvialis</i>	EC <sub>50</sub> (4 h)	13	3	Knie et al. 1983
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	9.3 (5.6 – 18)	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	12	3	Kühn et al. 1989
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	13	2	Knie et al. 1983
Poissons	<i>Brachydanio rerio</i>	NOEC (14 j)	0.2	2	Röderer 1990
	<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (14 j)	6.2	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986
	<i>Brachydanio rerio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	7.9	2	Röderer 1990
	<i>Brachydanio rerio</i>	EC <sub>50</sub> (7 j)	18	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986

#### Algues :

Les essais de Knie et al. 1983 sur *Haematococcus pluvialis* indiquent une EC<sub>50</sub> à 4 h de 13 mg/L pour le 4-chloro-2-nitrotoluène. Le critère d'effet suivi pendant ces tests est l'inhibition de la production d'oxygène pendant 4 heures. Le test a été conduit selon la norme allemande DIN et on peut aussi noter que les milieux d'essai n'ont pas été couverts. Les concentrations nominales ont été utilisées.

*La durée du test est jugée trop courte pour pouvoir évaluer la toxicité aiguë de la substance vis-à-vis de cette algue. Le test est donc invalide.*

Kühn and Pattard 1990 ont réalisé un essai sur l'algue verte *Scenedesmus subspicatus* (souche 86.81 SAG) selon une méthode normalisée DIN 38 412, Part 9 avec quelques modifications : l'essai a duré 48 heures en système fermé et des récipients d'essai de 250 mL ont été utilisés. La densité initiale en algue est de 10<sup>4</sup> cellules/mL, et il a été vérifié que les algues étaient en phase exponentielle de croissance. Le protocole de préparation du milieu d'essai est présenté et paraît satisfaisant. Le pH initial est de 8.1, et la température a été maintenue à 24 ± 1 °C. Une illumination constante de 17 W/m<sup>2</sup> (environ 12000 lux) a été fournie par des tubes fluorescents. Huit concentrations comprises entre 0.12 et 15 mg/L ont été testées et des témoins ont été réalisés. La biomasse a été déterminée par mesure de la densité optique, au début du test puis après 24 h et 48 h. Après 48 h, le pH a augmenté de 1.5 unités et la densité moyenne en cellules des témoins était plus de 16 fois supérieure à la densité initiale. Deux paramètres ont été étudiés : le taux de croissance (r) et la biomasse (b). Les EC<sub>50</sub> sont exprimées en fonction des concentrations nominales. La E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> (effet sur la biomasse) et la E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> (effet sur le taux de croissance) à 48h ont été déterminées à 10 mg/L et à 18 mg/L respectivement.

*Le protocole expérimental est bien décrit et des précautions particulières ont été prises pour limiter les pertes de la substance par volatilisation. Cependant, la ligne directrice 201 de l'OCDE recommande une durée d'essai de 72 heures. Ceci peut éventuellement être justifié par la plus forte luminosité utilisée (recommandations de la ligne directrice 201 de l'OCDE ou de la norme ISO NF EN 28692 : 6400 à 9600 lux). La variation du pH au cours de l'essai (1.5 unités) dépasse la variabilité limite recommandée par l'OCDE (1 unité). Compte tenu de ces remarques et de l'absence de suivi analytique, la  $E_bC_{50}$  est considérée valide avec restrictions. Ne faisant pas partie de l'intervalle des concentrations testées, la  $E,C_{50} = 18 \text{ mg/L}$  n'est pas considérée valide.*

L'essai de Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 sur *Chlorella pyrenoidosa* a été réalisé selon la ligne directrice OCDE 201, avec quelques modifications (Van Leeuwen et al. 1985b) : la température est de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  et la concentration cellulaire initiale dans la solution d'essai est de  $10^8$  cellules/L. Les essais ont été réalisés en triplicata dans des erlenmeyers de 200 mL (avec 100 mL de solution d'essai) et sous un éclairage de  $7.5 \text{ W.m}^{-2}$  (environ 5000 lux). La composition du milieu d'essai est détaillée dans Van Leeuwen and Maas 1985. . Une solution de pureté  $> 97\%$  ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. L'inhibition de la croissance cellulaire a été suivie et est exprimée en fonction des concentrations nominales. Une  $EC_{50}$  (96 h) de 6 (5.2 – 6.9) mg/L a été déterminée.

*Certaines informations ne sont pas précisées : valeur des concentrations d'essai testées, pH, concentration cellulaire dans les cultures témoins à la fin du test. De plus, la concentration en DMSO n'est pas donnée et il n'est pas précisé si des témoins ont été réalisés avec le DMSO. Cependant, l'essai a suivi la ligne directrice 201 de l'OCDE. Il est donc considéré valide avec restrictions.*

#### Micro-crustacés :

L'essai de Knie et al. 1983 sur *Daphnia magna* a été réalisé selon la procédure DIN 38412 Part 11 en conditions statiques pendant 24 h. Les concentrations nominales ont été utilisées pour la détermination du critère d'effet (mesure de l'inhibition de la mobilité). Une  $EC_{50}$  égale à 13 mg/L a été déterminée.

*L'essai a été réalisé selon une méthode normalisée. Cependant, une durée de test de 48h, généralement recommandée, aurait pu révéler une plus grande sensibilité chez cette espèce. Cet essai est donc jugé valide avec restrictions pour cette étude. En effet,*

Le test de Kühn et al. 1989, est extrait d'une étude chronique (cf. partie 2.2) réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée américaine. Ce test de 24h a été réalisé sur des daphnies âgées de 24h et dans des conditions de milieu statiques. La gamme des concentrations testées est comprise entre 0.08 et 10 mg/L. 20 daphnies, réparties en 4 groupes de 5 individus dans 250 mL de milieu ont été utilisées pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle. Une  $EC_{50}$  (24 h) = 12 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*La  $EC_{50}$  (24 h) n'est pas comprise dans l'intervalle des concentrations testées. Ce résultat n'est donc pas considéré valide.*

L'essai de Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 sur *Daphnia magna* ( $< 24 \text{ h}$ ) a été réalisé selon une procédure NEN<sup>34</sup> et la ligne directrice OCDE 202, avec quelques modifications (Van Leeuwen et al. 1985b). Les solutions d'essai ont été renouvelées tous les jours et les daphnies nourries avec  $10^8$  cellules/L de *Chlorella pyrenoidosa*. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen and Maas 1985. Une solution de pureté  $> 97 \%$  ainsi que du

---

<sup>34</sup> NEN 6501, 1980. Determination of acute toxicity with *Daphnia magna*. Dutch Standardization Organization, Rijswijk, the Netherlands.

diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. La LC<sub>50</sub> (48h) a été déterminée à 9.3 (5.6 – 18) mg/L.

*Dans cet essai court terme, les daphnies ont été nourries, contrairement à ce que recommande la ligne directrice 202 de l'OCDE. Par ailleurs, certaines informations sont manquantes : les conditions d'incubation, la mortalité dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas indiquées. De plus, la concentration en DMSO n'est pas donnée et il n'est pas précisé si des témoins ont été réalisés avec le DMSO. Le résultat obtenu est considéré valide sous ces restrictions.*

#### Poissons :

L'essai de Maas-Diepeveen & Van Leeuwen (1986) sur *Poecilia reticulata* a été réalisé selon la méthode décrite par Konemann 1981, c'est-à-dire en conditions semi-statiques. Le milieu d'essai a été renouvelé quotidiennement. 8 individus ont été testés par concentration d'essai appartenant à une série géométrique de raison 1.8. Les solutions mères ont été préparées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO, pureté 99%) avec une solution de pureté > 97%. La LC<sub>50</sub> (14 j.) = 6.2 mg/L est celle déterminée par Deneer et al. 1986 à partir des concentrations nominales.

*Peu de renseignements sont disponibles sur les soins administrés aux poissons (lumière, période d'acclimatation). La mortalité dans les groupes témoins, les concentrations d'essai utilisées, le nombre de réplicats et la réalisation de témoins avec DMSO et avec solvant ne sont pas indiqués. Par ailleurs, la ligne directrice 204 de l'OCDE recommande 10 animaux par concentration d'essai. Sous ces restrictions, l'essai est jugé valide.*

Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 ont également réalisé un essai de toxicité aux premiers stades de vie sur *Brachydanio rerio* dans des conditions de milieu semi-statiques : les solutions d'essai (50 mL par récipient d'essai de 100 mL) ont été renouvelées trois fois durant les 7 jours de l'essai. La température est de 25 ± 1°C, le pH de 8.2 ± 0.2, la dureté de l'eau de 250 mg/L CaCO<sub>3</sub> et une photopériode de 12 heures a été employée. Une solution de pureté > 97% ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères.. L'essai a démarré 4h après que les œufs aient été fécondés (stade blastula) et s'est terminé au bout de 7 jours d'exposition. Les éclosions ont eu lieu les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> jours. Aucune alimentation n'a été administrée aux poissons durant le test. Chaque jour, les spécimens morts ont été comptés puis enlevés. Les plus fortes mortalités ont été observées au stade œuf. Au bout de 7 jours, une LC<sub>50</sub> a été déterminée égale à 36 (10 - 100) mg/L. Une EC<sub>50</sub> (7 j.) = 18 (10 - 32) mg/L a été définie par rapport au groupe témoin en combinant le nombre moyen de poissons survivants et celui de poissons présentant un développement normal.

*Il manque certaines informations dans le rapport d'essai : taux de survie des témoins, concentrations d'essai testées et mesures analytiques. L'essai est donc jugé valide sous restrictions.*

L'essai de toxicité aiguë de Röderer 1990 sur *Brachydanio rerio* suit la ligne directrice OCDE 203. Le protocole d'essai est bien renseigné. Un mode de contamination en flot continu (six renouvellements par jour) et un suivi analytique des concentrations par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisés. Le milieu est de l'eau reconstituée (ISO 6341-1982) conformément à l'annexe 2 de la ligne directrice OCDE 203. Les caractéristiques des organismes de test sont présentées dans la publication : origine, taille (2.0 +/- 1 cm), acclimatation préalable (au minimum 12 jour), etc. L'essai a été réalisé en aquarium de 370 L, la température moyenne de l'essai était de 23 °C et le pH de 8.15. Cinq concentrations et un témoin ont été conduits avec 10 organismes par concentration et dans les témoins. Aucune mortalité n'a été constatée chez les témoins. Une LC<sub>50</sub> (48 h) = 9.3 mg/L et une LC<sub>50</sub> (96 h) = 7.9 mg/L ont été déterminées.

*Le protocole d'essai et la méthode analytique paraissent bien renseignés mais sa consultation en allemand n'a pas permis d'étudier en détail le protocole. Ce test répond aux exigences de la ligne directrice OCDE 203, mais les concentrations d'essais n'étant pas précisées, cet essai sera jugé valide avec restriction.*

Röderer 1990 a également réalisé un essai de toxicité prolongée de 14 jours sur *Brachydanio rerio*, selon la ligne directrice OCDE 204. Les conditions de cet essai sont identiques à celles de l'essai aigu 96 h décrit ci-dessous. Le critère d'effet étudié est la modification du comportement des organismes testés.

*Le protocole d'essai et la méthode analytique sont bien renseignés. Ce test répond aux exigences de la ligne directrice OCDE 204, mais les concentrations d'essais n'étant pas précisées, cet essai sera jugé valide avec restriction.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	E <sub>b</sub> C <sub>10</sub> (48 h)	4.5	2	Kühn and Pattard 1990
		E <sub>r</sub> C <sub>10</sub> (48 h)	7		
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21 j)	0.32	2	Kühn et al. 1989
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (21 j)	6.8 (6.4 – 7.1)	Non pertinent	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986

### Algues :

Le test de Kühn and Pattard 1990 est bien renseigné et applique la norme allemande DIN 38 412, Part 9 avec quelques modifications (cf. partie 2.1). La gamme de concentrations testées est comprise entre 0.12 et 15 mg/L. Deux paramètres ont été étudiés : le taux de croissance (r) et la biomasse, (b). Les EC<sub>10</sub> sont exprimées en fonction des concentrations nominales. La E<sub>b</sub>C<sub>10</sub> (effet sur la biomasse) et la E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> (effet sur le taux de croissance) à 48 h ont été déterminées à 4.5 mg/L et à 7 mg/L respectivement.

*Les résultats obtenus sont considérés valides avec restrictions (cf. partie 2.1).*

### Micro-crustacés :

L'essai chronique de Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 sur *Daphnia magna* (< 24 h) a été réalisé selon la procédure allemande NEN<sup>35</sup> et la méthode décrite par Van Leeuwen et al. 1985a avec quelques modifications : 10 daphnies ont été testées individuellement par concentration d'essai (1 animal dans 50 mL de solution d'essai). Les daphnies étaient nourries tous les jours avec 3.10<sup>8</sup> cellules/L de *Chlorella pyrenoidosa*. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen and Maas 1985. . Une solution de pureté > 97% ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. Une LC<sub>50</sub> (21 j.) a été déterminée à 6.8 (6.4 – 7.1) mg/L.

*Aucune indication n'est fournie sur la mortalité dans les témoins, sur les concentrations d'essai testées et sur les mesures analytiques. Le résultat obtenu (concentration entraînant 50 % d'effet) et le critère d'effet mesuré (mortalité) ne sont pas pertinents pour l'évaluation de l'écotoxicité chronique. Ce résultat est donc jugé non pertinent pour la détermination de la PNECaqua.*

<sup>35</sup> NEN 6502, 1980. Determination of chronic toxicity with *Daphnia magna*. Dutch Standardization Organization, Rijswijk, the Netherlands.

Le test de Kühn et al. 1989, est extrait d'une étude réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée américaine. Ce test semi-statique est bien renseigné (eau reconstituée initialement saturée en O<sub>2</sub> dissous, 25 ± 1°C, pH = 8 ± 0.2, dureté de l'eau = 2.5 mmol CaCO<sub>3</sub>/L). 9 heures de lumière par jour ont été fournies par des lampes fluorescentes (25/40 W). Le milieu a été renouvelé trois fois par semaine. Le pH et l'O<sub>2</sub> dissous ont été contrôlés régulièrement et les daphnies alimentées quotidiennement. Trois paramètres ont été mesurés : le taux de reproduction, la mortalité des organismes parents et le temps d'apparition de la progéniture. La gamme des concentrations testées est comprise entre 0.08 et 10 mg/L. 20 daphnies (âgées de 24 h) ont été testées par concentration d'essai. Chaque concentration d'essai a été testée en 4 exemplaires (5 individus dans 250 mL de solution) et des contrôles ont été réalisés en 4 réplicats au minimum. Les résultats sont exprimés en terme de concentrations nominales, mais un suivi analytique a été réalisé montrant qu'il n'y a pas eu de perte importante de la substance. La NOEC (21 j.) = 0.32 mg/L a été déterminée pour le paramètre mesuré le plus sensible qui était la mortalité des animaux parents.

*Le protocole expérimental est bien détaillé et semble globalement satisfaisant mis à part l'absence d'informations sur les groupes témoins à la fin de l'essai. Par ailleurs, la ligne directrice 211 de l'OCDE recommande une température du milieu d'essai comprise entre 18 et 22°C, une photopériode de 16 heures et de tester les animaux individuellement en système semi-statique. Compte-tenu de ces remarques et du critère d'effet mesuré, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

On dispose de résultats d'essais chroniques valides pour deux niveaux trophiques différents (algues et invertébrés). Le plus faible résultat d'essai aigu a été déterminé pour *Chlorella pyrenoidosa* et diffère de seulement 0.2 mg/L de celui déterminé pour le poisson *Poecilia reticulata*. Ainsi, les deux niveaux trophiques représentés par ces espèces sont les plus sensibles, avec un niveau de sensibilité similaire. Par ailleurs, la plus basse NOEC obtenue sur *Daphnia magna* est supérieure à la NOEC (14 j) obtenue sur *Brachydanio rerio*. Etant donné que cette dernière NOEC est une donnée « subchronique » du fait de sa durée intermédiaire, il est difficile de déterminer un facteur de sécurité approprié car ce cas n'est pas envisagé par le TGD. Ainsi, le facteur de 100 recommandé par le TGD (cas où cette donnée serait considérée comme aiguë) ne s'applique pas tout à fait, tout comme le facteur 10 (cas où cette donnée serait considérée comme chronique (3 données chroniques valides)) paraît inapproprié. Par conséquent, un facteur d'extrapolation de 50 sera appliqué à la NOEC (14 j) sur *Brachydanio rerio* pour dériver la PNEC<sub>aqua</sub> :

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 0.2/50 \text{ mg/L, soit :}$$

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 4 \text{ } \mu\text{g/L}$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

Deneer, J. W., T. L. Sinnige, W. Seinen and J. L. M. Hermens (1986). Quantitative structure-activity relationships for the toxicity and bioconcentration factor of nitrobenzene derivatives towards the guppy (*Poecilia reticulata*).

Knie, J., A. Hälke, I. Juhnke and W. Schiller (1983). "Results of Studies on Chemical Substances with Four Biotests. (Ergebnisse der Untersuchungen von chemischen Stoffen mit vier Biotests)." Deutsches gewässerkundliche Mitteilungen 27(3): 77-79.

Konemann, H. (1981). "Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies. I. Relationship for 50 industrial pollutants." Toxicology 19: 209-221.

Kühn, R. and M. Pattard (1990). "Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test." Wat. Res. 24(1): 31-38.

Kühn, R., M. Pattard, K.-D. Pernak and A. Winter (1989). "Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test (OECDG Data File)." Wat. Res. 23(4): 501-510.

Maas-Diepeveen, J. L. and C. J. Van Leeuwen (1986). Aquatic toxicity of aromatic nitro compounds and anilines to several freshwater species. The Neederlands, Laboratory for Ecotoxicology, Institute for Inland Water Management and Waste Water Treatment: 25.

Röderer, G. (1990). Testung wassergefährdender Stoffe als Grundlage fuer Wasserqualitätsstandards. Fraunhofer-Institut fuer Umweltchemie und Oekotoxikologie, 5948 Schmallenberg, UFOPLAN-Nr. 116 08 071/01: 79 p.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,

Van Leeuwen, C. J., W. J. Luttmer and P. S. Griffioen (1985a). "The use of cohorts and populations in chronic toxicity studies with *Daphnia magna*: a cadmium example." Ecotox. Environ. Safety 9: 26-39.

Van Leeuwen, C. J. and H. Maas (1985). "The aquatic toxicity of 2,6-dichlorobenzamide (BAM), a degradation product of the herbicide dichlobenil." Environ. Pollut. Ser. A. 37: 105-115.

Van Leeuwen, C. J., J. L. Maas-Diepeveen, G. Niebeek, W. H. A. Vergouw, P. S. Griffioen and M. W. Luyken (1985b). "Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds. Short-term tests." Aquat. Toxicol. 7: 145-164.



# Les Chloronitrotoluènes

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques de certains chloronitrotoluènes (à l'exception du 4-chloro-2-nitrotoluène) pour lesquels des essais écotoxicologiques aquatiques ont été réalisés, sont présentées dans le tableau 1. Une certaine homogénéité est remarquée entre les propriétés physico-chimiques des trois substances étudiées.

**Tableau 1 : propriétés physico-chimiques de chloronitrotoluènes.**

	<b>2-chloro-4-nitrotoluène</b> n°CAS : 121-86-8	<b>2-chloro-6-nitrotoluène</b> n°CAS : 83-42-1	<b>4-chloro-3-nitrotoluène</b> n°CAS : 89-60-1
<b>Formule brute</b>	C <sub>7</sub> -H <sub>6</sub> -Cl-N-O <sub>2</sub>	C <sub>7</sub> -H <sub>6</sub> -Cl-N-O <sub>2</sub>	C <sub>7</sub> -H <sub>6</sub> -Cl-N-O <sub>2</sub>
<b>Etat physique</b>	Solide (IUCALID 2000)		
<b>Poids moléculaire</b> (g/mol)	171.58	171.58	171.58
<b>Densité</b> (g/cm <sup>3</sup> )	1.28 à 70°C (IUCALID 2000)		
<b>Point d'ébullition</b>	260°C à 1 atm (HSDB 2000)	238°C (1)	261°C (1)
<b>Point de fusion</b>	68°C (HSDB 2000)	37.8°C (1)	7°C (1)
<b>Pression de vapeur</b>	0.517* Pa à 20 °C (IUCALID 2000) 400 Pa à 100°C (Verschueren 2001) 0.86* Pa à 25°C (MPBPWIN v.1.41)	5.026* Pa à 25°C (1) (MPBPWIN v.1.41)	2.013* Pa à 25°C (1) (MPBPWIN v.1.41)
<b>Solubilité</b>	49 mg/L à 20°C (IUCALID 2000) 67.2* mg/L à 25°C (1) (WSKOW v.1.41)	56.56 * mg/L à 25°C (1) (WSKOW v.1.41)	67.18 * mg/L à 25°C (1) (WSKOW v.1.41)
<b>Constante de Henry à 25 °C</b> (Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> )	1.763 * (1) (HENRYWIN v.3.10)	1.763 * (1) (HENRYWIN v.3.10)	1.763 * (1) (HENRYWIN v.3.10)
<b>Log Kow</b>	3.247* (HSDB 2000)	3.09 (1)	3* (1) (KOWWIN v.1.67)
<b>Koc</b>	511* (1) (PCKOWIN v.1.66) 1391* (HSDB 2000)	521.6* (1) (PCKOWIN v.1.66)	511* (1) (PCKOWIN v.1.66)

US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004

\* valeurs calculées

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le 2-chloro-4-nitrotoluène, le 2-chloro-6-nitrotoluène et le 4-chloro-3-nitrotoluène peuvent être considérés comme des substances faiblement solubles et modérément volatiles. Une étude de la volatilisation du 2-chloro-4-nitrotoluène dans un modèle de rivière indique un temps de ½ vie de 32 heures (HSDB 2000). Cependant, ce modèle ne prend pas en compte le phénomène d'adsorption. En effet, les valeurs des Koc laissent prévoir une adsorption relativement élevée sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau et donc sur les parois des récipients d'essais.

## 1.2 Persistance

Ne possédant pas de groupes fonctionnels facilement hydrolysables, les chloronitrotoluènes ne sont pas susceptibles d'être dégradés par hydrolyse. (HSDB 2000).

Les chloronitrotoluènes absorbent la lumière à des longueurs d'onde > 290 nm. Ils subissent donc probablement une photolyse directe dans l'eau (HSDB 2000).

Une biodégradation de 75% du 2-chloro-4-nitrotoluène a été observée après 28 jours d'incubation en conditions aérobies (IUCLID 2000).

## 1.3 Bioaccumulation

Une valeur de BCF = 173 a été estimée à partir du Log Kow (3.247) pour le 2-chloro-4-nitrotoluène suggérant que sa bioconcentration chez les organismes aquatiques peut être importante (HSDB 2000). Des valeurs de BCF de 40.92 et 47.79 ont également été calculées pour le 4-chloro-3-nitrotoluène et le 2-chloro-6-nitrotoluène, respectivement (BCFWIN v.2.15 cité dans US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004).

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Substance	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	EC <sub>50</sub> (96 h)	6.8	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (48 h) E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> (48 h)	8.5 >10	2	Kühn and Pattard 1990
		4-chloro-3-nitrotoluène n°CAS : 89-60-1	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (48 h) E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> (48 h)	11 23	2	
	<i>Haematococcus pluvialis</i>	2-chloro-4-nitrotoluène n°CAS : 121-86-8	EC <sub>50</sub> (4 h)	9	3	
		2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	EC <sub>50</sub> (4 h)	16	3	
		5-chloro-2-nitrotoluène n°CAS : 5367-28-2	EC <sub>50</sub> (4 h)	16	3	
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-4-nitrotoluène n°CAS : 121-86-8	EC <sub>50</sub> (24 h)	4	4	Kühn 1988
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	EC <sub>50</sub> (24 h)	4	2	Kühn et al. 1989
	<i>Daphnia magna</i>	4-chloro-3-nitrotoluène n°CAS : 89-60-1	EC <sub>50</sub> (24 h)	9.7	3	Kühn et al. 1989
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	LC <sub>50</sub> (48 h)	4.2 (3.2 - 5.6)	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986

	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-4-nitrotoluène n°CAS : 121-86-8	EC <sub>50</sub> (24 h)	6	2	Knie et al. 1983
		2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	EC <sub>50</sub>	9	2	
		5-chloro-2-nitrotoluène n°CAS : 5367-28-2	EC <sub>50</sub> (24 h)	35	2	
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-4-nitrotoluène n°CAS : 121-86-8	EC <sub>50</sub> (24 h)	10	4	Hoechst AG 1986
<b>Poissons</b>	<i>Poecilia reticulata</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	LC <sub>50</sub> (14 j.)	5.2	2	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986
	<i>Brachydanio rerio</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	EC <sub>50</sub> (7 j.)	7.5	2	

### Algues :

Les essais de Knie et al. 1983 sur *Haematococcus pluvialis* indiquent une EC<sub>50</sub> à 4 h de 9 mg/L pour le 2-chloro-4-nitrotoluène, de 16 mg/L pour le 2-chloro-6-nitrotoluène et de 16 mg/L pour le 5-chloro-2-nitrotoluène. Le critère d'effet suivi pendant ces tests est l'inhibition de la production d'oxygène pendant 4 heures. Le test a été conduit selon la norme allemande DIN et on peut aussi noter que les milieux d'essai n'ont pas été couverts. Les concentrations nominales ont été utilisées.

*La durée du test est jugée comme étant trop courte pour pouvoir évaluer la toxicité aiguë de la substance vis-à-vis de cette algue. Le test est donc invalide.*

Kühn and Pattard 1990 ont réalisé des essais de toxicité aiguë du 4-chloro-3-nitrotoluène et du 2-chloro-6-nitrotoluène selon la méthode normalisée DIN 38 412, Part 9 avec quelques modifications : les essais ont été conduits en récipients clos de 250 mL durant 48 heures. L'espèce *Scenedesmus subspicatus* de souche 86.81 SAG a été utilisée. La densité initiale est de 10<sup>4</sup> cellules/mL, et il a été vérifié que les algues étaient en phase exponentielle de croissance. Le protocole de préparation du milieu d'essai est présenté et paraît satisfaisant. Le pH initial est de 8.1 et la température a été maintenue à 24 ± 1 °C. Une illumination constante de 17 W/m<sup>2</sup> (environ 12000 lux) a été fournie par des tubes fluorescents. Huit concentrations comprises entre 0.4 et 50 mg/L et entre 0.08 et 10 mg/L ont été testées pour le 4-chloro-3-nitrotoluène et le 2-chloro-6-nitrotoluène, respectivement. Des témoins ont été réalisés. La biomasse a été déterminée par mesure de la densité optique, au début du test puis après 24 et 48 h. Après 48 h, le pH a augmenté de 1.5 unités et la densité moyenne en cellules des témoins était plus de 16 fois supérieure à la densité initiale. Deux paramètres ont été étudiés : le taux de croissance (r) et la biomasse (b). Les EC<sub>50</sub> sont exprimées en fonction des concentrations nominales. Pour le 4-chloro-3-nitrotoluène, une E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> (effet sur la biomasse) de 11 mg/L et une E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> (effet sur le taux de croissance) de 23 mg/L ont été déterminées à 48 h. Pour le 2-chloro-6-nitrotoluène, une E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> de 8.5 mg/L et une E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> > 10 mg/L ont été déterminées à 48 h.

*Le protocole expérimental est bien décrit et des précautions particulières ont été prises pour limiter les pertes des substances par volatilisation. Cependant, la ligne directrice OCDE 201 recommande une durée d'essai de 72 heures. Par ailleurs, la luminosité apparaît un peu forte par rapport aux recommandations de la ligne directrice OCDE 201 ou de la norme ISO NF EN 28692 (6400 à 9600 lux). De même la variation de pH au cours de l'essai (1.5 unités) dépasse la variabilité limite recommandée par l'OCDE (1 unité). Compte tenu de ces remarques et de l'absence de suivi analytique, les valeurs obtenues sont considérées valides avec restriction.*

L'essai de Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 sur la toxicité aiguë du 2-chloro-6-nitrotoluène vis-à-vis de *Chlorella pyrenoidosa* a été réalisé selon la ligne directrice OCDE 201,

avec quelques modifications (Van Leeuwen et al. 1985b) : la température est de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  et la concentration cellulaire initiale dans la solution d'essai est de  $10^8$  cellules/L. L'algue *Chlorella pyrenoidosa* a été testée en phase exponentielle de croissance. Les essais ont été réalisés en triplicata dans des erlenmeyers de 200 mL (avec 100 mL de solution d'essai) et sous un éclairage de  $7.5 \text{ W}\cdot\text{m}^{-2}$  (environ 5000 lux). La composition du milieu d'essai est détaillée dans Van Leeuwen and Maas 1985. Une solution de pureté  $> 99\%$  ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. L'inhibition de la croissance cellulaire a été suivie et est exprimée en fonction des concentrations nominales. Une  $\text{EC}_{50}$  à 96 heures de 6.8 (5.3 – 8.7) mg/L a été déterminée.

*L'essai a été réalisé selon la ligne directrice OCDE 201. Néanmoins, la valeur des concentrations d'essai utilisées, le pH et la concentration cellulaire dans les cultures témoins à la fin du test ne sont pas indiquées. De plus, la concentration en DMSO n'est pas donnée et il n'est pas précisé s'il y a eu des témoins avec DMSO. Il est considéré valide sous restrictions.*

#### Micro-crustacés :

L'essai de Hoechst AG 1986 sur la toxicité aiguë du 2-chloro-4-nitrotoluène vis-à-vis de *Daphnia magna* est cité dans IUCLID 2000 et a été réalisé selon la procédure DIN 38412 Part 11. Une  $\text{EC}_{50}$  sur 24 heures a été déterminée à environ 10 mg/L.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport, il n'a pas été possible de juger de la validité de l'essai.*

Les essais de Knie et al. 1983 sur *Daphnia magna* ont été réalisés selon la procédure DIN 38412 Part 11, en conditions statiques pendant 24 h. Les concentrations nominales ont été utilisées pour la détermination du critère d'effet (mesure de l'inhibition de la mobilité). Des  $\text{EC}_{50}$  de 6 mg/L, de 9 mg/L et de 35 mg/L ont été déterminées pour le 2-chloro-4-nitrotoluène, le 2-chloro-6-nitrotoluène et le 5-chloro-2-nitrotoluène, respectivement.

*Ce test est retenu comme étant valide avec restrictions pour cette étude. En effet, une durée de test de 48h, généralement recommandée, pourrait révéler une plus grande sensibilité chez cette espèce.*

L'essai de toxicité aiguë du 2-chloro-4-nitrotoluène de Kühn 1988 sur *Daphnia magna* est cité dans la base de données AQUIRE mais la publication originale n'a pas pu être consultée.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de l'essai.*

Les tests de Kühn et al. 1989 sur la toxicité aiguë du 2-chloro-6-nitrotoluène et du 4-chloro-3-nitrotoluène sont extraits d'une étude chronique (cf. partie 2.2) réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée américaine. Ces tests de 24 h ont été réalisés sur des daphnies âgées de 24 h et dans des conditions de milieu statiques (eau reconstituée initialement saturée en  $\text{O}_2$  dissous, température de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 8 \pm 0.2$ , dureté de l'eau = 2.5 mmol  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). Le critère d'effet mesuré est l'inhibition de la mobilité. La gamme des concentrations testées est comprise entre 0.04 et 5 mg/L pour le 2-chloro-6-nitrotoluène et entre 0.063 et 8 mg/L pour le 4-chloro-3-nitrotoluène. 20 daphnies, réparties en 4 groupes de 5 individus dans 250 mL de milieu ont été utilisées pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle. Les  $\text{EC}_{50}$  (24 h) ont été déterminées à partir des concentrations nominales :

- $\text{EC}_{50}$  (24 h) = 4 mg/L pour le 2-chloro-6-nitrotoluène
- $\text{EC}_{50}$  (24 h) = 9.7 mg/L pour le 4-chloro-3-nitrotoluène

*Pour le 4-chloro-3-nitrotoluène, la  $\text{EC}_{50}$  (24 h) n'est pas comprise dans l'intervalle des concentrations testées et ne sera donc pas considérées. Par contre, le résultat obtenu pour le 2-chloro-6-nitrotoluène est jugé valide sous certaines restrictions : la courte durée de l'essai (48 h normalement), la température du milieu d'essai relativement élevée (un maximum de  $22^\circ\text{C}$  est recommandé) et l'absence d'informations sur les groupes témoins à la fin de l'essai.*

L'essai de Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 sur la toxicité aiguë du 2-chloro-6-nitrotoluène vis-à-vis de *Daphnia magna* (< 24 h) a été réalisé selon une procédure NEN<sup>36</sup> et la ligne directrice OCDE 202 avec quelques modifications (Van Leeuwen et al. 1985b) : les solutions d'essai ont été renouvelées tous les jours et les daphnies nourries avec *Chlorella pyrenoidosa* (10<sup>8</sup> cellules/L). La composition du milieu d'essai est détaillée dans Van Leeuwen and Maas 1985. Une solution de pureté > 99% ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. La LC<sub>50</sub> (48h) a été déterminée à 4.2 (3.2 – 5.6) mg/L.

*Il est indiqué que l'essai a été réalisé selon la ligne directrice OCDE 202. Mais la mortalité dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas indiquées. De plus, la concentration en DMSO n'est pas donnée et il n'est pas précisé s'il y a eu des témoins avec DMSO. Le résultat obtenu est considéré valide sous ces restrictions.*

#### Poissons :

L'essai de Maas-Diepeveen & Van Leeuwen (1986) sur la toxicité aiguë du 2-chloro-6-nitrotoluène vis-à-vis de *Poecilia reticulata* a été réalisé selon la méthode décrite par Konemann 1981, c'est-à-dire en conditions semi-statiques. Le milieu d'essai a été renouvelé quotidiennement. 8 individus ont été testés par concentration d'essai, la gamme de concentrations étant une série géométrique de raison 1.8. Les solutions mères ont été préparées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO, pureté 99%) avec une solution de pureté > 99%. La LC<sub>50</sub> (14 j.) = 5.2 mg/L est celle déterminée par Deneer et al. 1986 à partir des concentrations nominales.

*Peu de renseignements sur les soins administrés aux poissons (lumière, période d'acclimatation) sont disponibles. La mortalité dans les groupes témoins, les concentrations d'essai utilisées, le nombre de réplicats et la réalisation de témoins avec DMSO et avec solvant ne sont pas indiqués. Par ailleurs, la ligne directrice 204 de l'OCDE recommande 10 animaux par concentration d'essai. Sous ces restrictions, l'essai est jugé valide.*

Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 ont également réalisé un essai de toxicité du 2-chloro-6-nitrotoluène aux premiers stades de vie sur *Brachydanio rerio* dans des conditions de milieu semi-statiques : les solutions d'essai (50 mL par récipient d'essai de 100 mL) ont été renouvelées trois fois durant les 7 jours de l'essai. La température est de 25 ± 1°C, le pH de 8.2 ± 0.2, la dureté de l'eau de 250 mg/L CaCO<sub>3</sub> et une photopériode de 12 heures a été employée. Une solution de pureté > 99% ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. L'essai a démarré 4 h après que les œufs aient été fécondés (stade blastula) et s'est terminé au bout de 7 jours d'exposition. Les éclosions ont eu lieu les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> jours. Aucune alimentation n'a été administrée aux poissons durant le test. Chaque jour, les spécimens morts ont été comptés puis enlevés. Les plus fortes mortalités ont été observées au stade œuf. Au bout de 7 jours, une LC<sub>50</sub> a été déterminée égale à 13 (3.2 – 32) mg/L. Une EC<sub>50</sub> (7 j.) = 7.5 (3.2 - 32) mg/L a été déterminée par rapport au groupe témoin en considérant à la fois le nombre moyen de poissons survivants et celui de poissons présentant un développement normal.

*Il manque certaines informations dans le rapport d'essai : taux de survie des témoins, concentrations d'essai testées et mesures analytiques. L'essai est donc jugé valide sous restrictions.*

---

<sup>36</sup> NEN 6501, 1980. Determination of acute toxicity with *Daphnia magna*. Dutch Standardization Organization, Rijswijk, the Netherlands.

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Substance	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	E <sub>b</sub> C <sub>10</sub> (48 h) E <sub>r</sub> C <sub>10</sub> (48 h)	3.4 5.5	2	
		4-chloro-3-nitrotoluène n°CAS : 89-60-1	E <sub>b</sub> C <sub>10</sub> (48 h) E <sub>r</sub> C <sub>10</sub> (48 h)	4.1 7.6	2	
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	4-chloro-3-nitrotoluène n°CAS : 89-60-1	NOEC (21 j.)	0.5	4	
		2-chloro-4-nitrotoluène n°CAS : 121-86-8	NOEC (21 j.)	0.63	4	
	<i>Daphnia magna</i>	4-chloro-3-nitrotoluène n°CAS : 89-60-1	NOEC (21 j.)	0.3	2	
		2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	NOEC (21 j.)	0.63	2	
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-6-nitrotoluène n°CAS : 83-42-1	LC <sub>50</sub> (21 j.)	3.4	non pertinent	Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986

### Algues :

Le test de Kühn and Pattard 1990 est bien renseigné et applique la norme allemande DIN 38 412, Part 9 avec quelques modifications (cf. partie 2.1). Huit concentrations comprises entre 0.4 et 50 mg/L et entre 0.08 et 10 mg/L ont été testées pour le 4-chloro-3-nitrotoluène et le 2-chloro-6-nitrotoluène respectivement. Des témoins ont été réalisés. Les EC<sub>10</sub> sont exprimées en fonction des concentrations nominales. Pour le 4-chloro-3-nitrotoluène, une E<sub>b</sub>C<sub>10</sub> (effet sur la biomasse) de 4.1 mg/L et une E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> (effet sur le taux de croissance) de 7.6 mg/L ont été déterminées à 48 h. Pour le 2-chloro-6-nitrotoluène, une E<sub>b</sub>C<sub>10</sub> de 3.4 mg/L et une E<sub>r</sub>C<sub>10</sub> de 5.5 mg/L ont été déterminées à 48 h.

*Les résultats obtenus sont considérés comme valides avec restrictions (cf. partie 2.1).*

### Micro-crustacés :

L'essai de Maas-Diepeveen and Van Leeuwen 1986 sur la toxicité chronique du 2-chloro-6-nitrotoluène vis-à-vis de *Daphnia magna* (< 24 h) a été réalisé selon la procédure allemande NEN<sup>37</sup> et la méthode décrite par Van Leeuwen et al. 1985a avec quelques modifications : 10 daphnies ont été testées individuellement par concentration d'essai (1 animal dans 50 mL de solution d'essai). Les daphnies ont été nourries tous les jours avec 3.10<sup>8</sup> cellules/L de *Chlorella pyrenoidosa*. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen and Maas 1985. Une solution de pureté > 99% ainsi que du diméthylsulfoxyde (solvant DMSO, pureté 99%) ont été utilisés pour préparer les solutions mères. Une LC<sub>50</sub> (21 j.) a été déterminée à 3.4 (3.3 – 3.5) mg/L.

*L'essai est peu détaillé : aucune indication n'est fournie sur la mortalité dans les témoins, sur les concentrations d'essai testées et sur les mesures analytiques. Le résultat obtenu (concentration entraînant 50 % d'effet) et le critère d'effet mesuré (la mortalité) ne sont pas pertinents pour les essais de toxicité chronique. Ce résultat est donc jugé non pertinent pour la détermination de la PNECaqua.*

<sup>37</sup> NEN 6502, 1980. Determination of chronic toxicity with *Daphnia magna*. Dutch Standardization Organization, Rijswijk, the Netherlands.

Les essais de toxicité chronique du 2-chloro-4-nitrotoluène et du 4-chloro-3-nitrotoluène menés par Kühn 1988 sur *Daphnia magna* sont cités dans la base de données AQUIRE mais n'ont pas été consultés dans la publication originale.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport, il n'a pas été possible de juger de la validité des essais.*

Les essais de Kühn et al. 1989 sur la toxicité chronique du 2-chloro-6-nitrotoluène et du 4-chloro-3-nitrotoluène, sont extraits d'une étude réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée américaine. Ces tests semi-statiques sont bien renseignés (eau reconstituée initialement saturée en O<sub>2</sub> dissous, 25 ± 1°C, pH = 8 ± 0.2, dureté de l'eau = 2.5 mmol CaCO<sub>3</sub>/L). 9 heures de lumière par jour ont été fournies par des lampes fluorescentes (25/40 W). Le milieu a été renouvelé trois fois par semaine. Le pH et l'O<sub>2</sub> dissous ont été contrôlés régulièrement et les daphnies alimentées quotidiennement. Trois paramètres ont été mesurés : le taux de reproduction, la mortalité des organismes parents et le temps d'apparition de la progéniture. La gamme des concentrations testées est comprise entre 0.04 et 5 mg/L pour le 2-chloro-6-nitrotoluène et entre 0.063 et 8 mg/L pour le 4-chloro-3-nitrotoluène. 20 daphnies (âgées de 24 h) ont été testées par concentration d'essai, avec 4 réplicats par concentration (5 individus dans 250 mL de solution), et des contrôles ont été réalisés en 4 réplicats au minimum. Pour le 2-chloro-6-nitrotoluène, les résultats sont exprimés en terme de concentrations nominales, mais un suivi analytique a été réalisé montrant qu'il n'y a pas eu de perte importante de la substance (inférieure à 20 %) : la NOEC à 21 jours a été déterminée égale à 0.63 mg/L. Pour le 4-chloro-3-nitrotoluène, le suivi analytique des concentrations d'essai a révélé une déviation par rapport aux concentrations nominales de plus de 20% et la NOEC a donc été déterminée à partir des concentrations mesurées et du critère d'effet le plus sensible, à savoir le taux de reproduction : NOEC (21 j.) = 0.3 mg/L.

*Le protocole expérimental est bien détaillé et semble globalement satisfaisant mis à part l'absence d'informations sur les groupes témoins à la fin des essais. Par ailleurs, la ligne directrice 211 de l'OCDE recommande une température du milieu d'essai entre 18 et 22°C une photopériode de 16 heures et de tester les animaux individuellement en système semi-statique. Compte-tenu de ces remarques, ces deux essais sont considérés valides avec restrictions.*

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

On dispose de résultats d'essais chroniques valides pour deux niveaux trophiques différents (algues et invertébrés). Or, ces résultats chroniques couvrent le niveau trophique possédant la plus basse EC<sub>50</sub> dans les essais court terme, qui est celle déterminée par Kühn et al. 1989 sur *Daphnia magna* (EC<sub>50</sub> = 4 mg/L). Ainsi, conformément à la Table 16 du TGD (E.C. 2003), la PNEC<sub>aqua</sub> sera déterminée en appliquant à la plus faible NOEC (NOEC (21 j.) = 0.3 mg/L pour *Daphnia magna*, Kühn et al. 1989) un facteur d'extrapolation de 50 : PNEC<sub>aqua</sub> = 0.3/50 = 0.06 mg/L, soit :

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 60 \mu\text{g/L}$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

AQUIRE. <http://www.epa.gov/ecotox/>

Deneer, J. W., T. L. Sinnige, W. Seinen and J. L. M. Hermens (1986). Quantitative structure-activity relationships for the toxicity and bioconcentration factor of nitrobenzene derivatives towards the guppy (*Poecilia reticulata*).

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

Hoechst AG (1986). Unveroeffentlichte Untersuchung.

HSDB (2000). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

IUCLID (2000). International Uniform Chemical Information Database.

Knie, J., A. Hälke, I. Juhnke and W. Schiller (1983). "Results of Studies on Chemical Substances with Four Biotests. (Ergebnisse der Untersuchungen von chemischen Stoffen mit vier Biotests)." Deutsches gewässerkundliche Mitteilungen 27(3): 77-79.

Konemann, H. (1981). "Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies. I. Relationship for 50 industrial pollutants." Toxicology 19: 209-221.

Kühn, R. and M. Pattard (1990). "Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test." Wat. Res. 24(1): 31-38.

Kühn, R., M. Pattard, K.-D. Pernak and A. Winter (1989). "Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test (OECDG Data File)." Wat. Res. 23(4): 501-510.

Kühn, R. e. a. (1988). Schadstoffwirkungen von Umweltchemikalien im Daphnien-Reproduktions-Test als Grundlage für die Bewertung der Umwelt-gefährlichkeit in aquatischen Systemen.

Maas-Diepeveen, J. L. and C. J. Van Leeuwen (1986). Aquatic toxicity of aromatic nitro compounds and anilines to several freshwater species. The Neederlands, Laboratory for Ecotoxicology, Institute for Inland Water Management and Waste Water Treatment: 25.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,.

Van Leeuwen, C. J., W. J. Luttmer and P. S. Griffioen (1985a). "The use of cohorts and populations in chronic toxicity studies with *Daphnia magna*: a cadmium example." Ecotox. Environ. Safety 9: 26-39.

Van Leeuwen, C. J. and H. Maas (1985). "The aquatic toxicity of 2,6-dichlorobenzamide (BAM), a degradation product of the herbicide dichlobenil." Environ. Pollut. Ser. A. 37: 105-115.

Van Leeuwen, C. J., J. L. Maas-Diepeveen, G. Niebeek, W. H. A. Vergouw, P. S. Griffioen and M. W. Luyken (1985b). "Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds. Short-term tests." Aquat. Toxicol. 7: 145-164.

Verschuere, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.

## 2-Chloro-p-toluidine – n° CAS 615-65-6 (2-chloro-4-Methylbenzenamine)

### 1. CARACTERISTIQUES

#### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Etat physique :

Poids moléculaire : 141.61 g/mol (HSDB, 2003)

Point de fusion : 7 °C

Point d'ébullition : 219 °C (Weast, 1979)

Pression de vapeur : 17.47 Pa à 25°C (estimée, EPISuite)

Solubilité : 953.9 mg/L à 25°C (estimée à partir du log Kow, EPISuite)  
1732.4 mg/L à 25°C (estimée par la méthode des fragments, EPISuite)

Log Kow : 2.58 (Broderius et al., 1995)  
2.27 (estimé, EPISuite)

Constante de Henry : 0.16 Pa.m<sup>3</sup>/mol à 25°C (estimée par la méthode des liaisons, EPISuite)  
0.20 Pa.m<sup>3</sup>/mol à 25°C (estimée par la méthode des groupes, EPISuite)  
2.59 Pa.m<sup>3</sup>/mol à 25°C (estimée à partir de la pression de vapeur et de la solubilité)

Des valeurs expérimentales pour certains paramètres n'ont pas pu être trouvées. Des estimations calculées à partir de modèles QSARs sont données par défaut. On peut néanmoins considérer que cette substance est soluble dans l'eau et relativement peu volatile.

### 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

#### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	ECr50 (72 h)	6.09	1	INERIS, 2006
Crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC50 (48)	0.73	1	INERIS, 2006
Poissons	<i>Pimephales promelas</i>	LC50 (96 h)	36.3	1	Broderius et al., 1995
	<i>Pimephales promelas</i>	LC50 (96 h)	35.9	1	Brooke et al., 1984

#### Algues :

Aucune donnée pour les algues n'a été trouvée dans la littérature pour le 2-chloro-p-toluidine. Un test sur *Pseudokirchneriella subcapitata* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006. La ligne directrice 201 de l'OCDE a été suivie. Des flacons étanches de 150 mL ont été utilisés. La EC50 72 h, par rapport au taux de croissance, a été déterminée à 6.09 mg/L en terme de concentrations mesurées. Les critères de validité ont été respectés : la concentration cellulaire dans les cultures témoins a été multipliée par un facteur supérieur à 16 sur la période de 3 jours.

#### Micro-crustacés :

Aucune donnée pour les crustacés n'a été trouvée dans la littérature pour le 2-chloro-p-toluidine. Un test sur *Daphnia magna* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006. La ligne directrice 202 de l'OCDE a été suivie. Des flacons à espace de tête sertis de 20 mL ont été utilisés. La EC50 (immobilisation) a été déterminée en terme de concentrations mesurées à 0.73 mg/L. La sensibilité des daphnies a été vérifiée par rapport au dichromate de potassium et est conforme aux recommandations de l'OCDE. Les critères de validité ont été respectés : la mortalité dans les témoins n'a pas excédé 10%, la concentration en oxygène dissous à la fin de l'essai est restée supérieure à 3 mg/L.

#### Poissons :

Broderius et al., 1995 donnent une LC50 (96 h) sur *Pimephales promelas* à 36.3. mg/L. Cet essai a été réalisé selon une norme ASTM, dans des conditions de renouvellement continu. La pureté de la substance testée était supérieure à 95%. Cinq concentrations ont été testées en duplicat. Elles ont été mesurées. Les concentrations en oxygène dissous ont été maintenues à un pourcentage supérieur à 80% de saturation. Les conditions physico-chimiques (température de 25°C, dureté: 45 mg CaCO<sub>3</sub>, pH 7.8) étaient conformes à celles recommandées par la ligne directrice OCDE 203.

*Ce résultat est considéré comme valide.*

Brooke et al., 1984 rapportent une LC50 (96 h) à 35.9 (31.8 - 40.5) mg/L également pour *Pimephales promelas*. Il s'agit d'un essai en renouvellement continu. La pureté de la substance testée était de 98%. Cinq concentrations ont été testées et un suivi analytique de ces concentrations a été réalisé. Les concentrations en oxygène dissous ont été maintenues à un pourcentage supérieur à 80% de saturation. Les conditions physico-chimiques (température de 25.6°C, dureté: 44.5 mg CaCO<sub>3</sub>, pH 7.41) étaient satisfaisantes.

*Ce résultat est considéré comme valide.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	ECr10 (72 h)	0.492	1	INERIS, 2006

INERIS, 2006 a également déterminé une donnée chronique pour les algues (cf. section 2.1).

## 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

La plus faible donnée aiguë disponible est une EC50 48h pour *Daphnia magna* à 0.73 mg/L. On dispose d'une donnée chronique pour les algues, mais, seule, elle ne peut pas être utilisée pour le calcul de la PNEC (les données chroniques pour les algues ne sont pas considérées comme représentatives d'effets à long terme pour l'environnement, cf. point *b* de la table 16 p 101 du TGD (E.C., 2003)).

La PNEC sera alors calculée en appliquant un facteur de 1000 sur la donnée aiguë pour *Daphnia magna*, soit:

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 0.73 \mu\text{g/L}$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

Broderius, S., et al. (1995). "Use of Joint Toxic Response to Define the Primary Mode of Toxic Action for Diverse Industrial Organic Chemicals." *Environ.Toxicol.Chem.* 14(9): 1591-1605.

Brooke, L. T., et al. (1984). Acute toxicities of organic chemicals to fathead minnows (*Pimephales promelas*). Superior, WI., Center for lake superior environmental studies, University of Wisconsin.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

EPISuite v3.12 (August 17, 2004). Syracuse Research Corporation & EPA's Office of Pollution Prevention Toxics. <http://www.epa.gov/oppt/exposure/docs/episuitedl.htm>

HSDB (2003). Hazardous Substances DataBase, National Library of Medicine. 2004. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

INERIS (2006). Détermination des CE50 pour trois substances chimiques sans PNEC (2-Amino-4-Chlorophenol ; 2-Chloro-p-Toluidine ; Epichlorohydrine). Rapport d'essai. 6 février 2006. INERIS-DRC-06-66026-ECOT-VVE/FGO-n° 06CR012.doc

Weast, R. C. (1979). Handbook of chemistry and physics. Florida., Boca Raton.



# Chlorure cyanurique – n°CAS : 108-77-0

Le chlorure cyanurique a fait l'objet d'une évaluation des dangers par la Suisse, dans le cadre du programme HPVC de l'OCDE (OECD 2001).

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>3</sub> -Cl <sub>3</sub> -N <sub>3</sub>
Etat physique :	cristaux incolores (HSDB, 2000)
Poids moléculaire :	184.41 g/mol
Densité :	1.32 g/cm <sup>3</sup> (HSDB, 2000) 1.92 g/cm <sup>3</sup> à 20°C (BUA, 1993 ; Verschueren, 2001)
Point de fusion :	145 - 146°C (BUA, 1993; HSDB, 2000; Verschueren, 2001)
Point d'ébullition :	192°C (HSDB, 2000)
Pression de vapeur :	0.6 - 2.5 Pa à 20°C (BUA, 1993)
Solubilité dans l'eau :	440 mg/L à 20°C (BUA, 1993 ; Verschueren, 2001)
Log Kow :	1.73* (KOWWIN v.1.67 cité dans US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)
Constante de Henry :	0.04* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (BUA, 1993)
Koc :	120 (HSDB, 2000) 124.4 (PCKOCWIN v.1.66 cité dans US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)

\*valeurs calculées

D'après les valeurs de la solubilité et de la constante de Henry qui a été calculée à partir de la pression de vapeur (2.337 Pa à 20°C) et de la solubilité (440 mg/L à 20°C), le chlorure cyanurique peut-être considéré comme une substance relativement soluble et faiblement volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de ½ vie de 100 jours et de 741 jours respectivement (HSDB, 2000). La valeur du Koc indique une adsorption modérée du chlorure cyanurique sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau.

### 1.2 Persistance

La dégradation du chlorure cyanurique par hydrolyse est la voie de dégradation la plus importante. En effet, le chlorure cyanurique réagit violemment avec l'eau produisant du 2,4-dichloro-6-hydroxy-1,3,5-triazine, du 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine et, comme produit final, de l'acide cyanurique. Cette série de réaction hydrolytique est fonction du pH et se produit d'autant plus rapidement que la température du milieu est élevée (BUA, 1993). Le rapport BUA, 1993 mentionne un temps de dissolution complète du chlorure cyanurique (1.84 g/L) en acide cyanurique égal à 12 heures à une température de 22°C et à un pH neutre. Le temps de ½ vie du chlorure cyanurique à 25°C et à un pH de 7 est de 3.5 min, alors que les temps de ½ vie des produits d'hydrolyse sont de 32 min pour le 2,4-dichloro-6-hydroxy-1,3,5-triazine et de 239 min pour le 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine (BUA, 1993).

Aucune donnée expérimentale concernant la photodégradation du chlorure cyanurique dans l'eau n'est disponible (BUA, 1993). Par contre, il est indiqué que l'acide cyanurique était susceptible de subir une photolyse directe dans l'eau (HSDB, 2000).

En raison de sa dégradation très rapide par hydrolyse, la biodégradation du chlorure cyanurique dans l'eau ne peut être déterminée. Par contre, des travaux de Saldick, 1974 (cité dans Proteau, 1978) ont montré que l'acide cyanurique était sujet, en milieu aérobie, à une faible biodégradation qui se stabiliserait dans le temps et qu'en milieu anaérobie, au contact de boues, une biodégradation totale pouvait se produire (production de CO<sub>2</sub> et NH<sub>3</sub>, les bactéries n'étant pas inhibées par l'acide cyanurique).

### 1.3 Bioaccumulation

Une valeur de BCF égal à 12, calculée à partir du Log Kow (1.73), indique une faible bioconcentration dans les organismes aquatiques (HSDB, 2000).

L'acide cyanurique est également considéré comme une substance peu bioconcentrable avec des valeurs de BCF < à 0.5 de 1 mg/L, et < à 0.1 pour une concentrations de 10 mg/, déterminées chez le poisson *Cyprinus carpio* après 6 semaines d'exposition (HSDB, 2000).

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

Compte tenu de l'importance du phénomène de dégradation du chlorure cyanurique par hydrolyse, des données écotoxicologiques ont également été recherchées pour les différents produits de dégradation et en particulier pour le 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine (solubilité de 11.2 g/L) et l'acide cyanurique (n°CAS : 108-80-5 ; solubilité de 288 g/L). En effet, du fait de la rapidité du phénomène d'hydrolyse, il est très probable que les organismes aquatiques soient davantage exposés aux produits de dégradation qu'à la substance mère elle-même.

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Substance	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Acide cyanurique	EC <sub>50</sub> (96 h)	712	4	IUCLID 2000
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Acide cyanurique	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (72 h)	620	2	Environment Agency Japan 1985 cité dans OECD 2001
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	Acide cyanurique	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.22	4	Office of pesticide programs 2000
	<i>Daphnia magna</i>	Acide cyanurique	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.25 (0.22 – 0.29)	4	Office of pesticide programs 2000
	<i>Daphnia magna</i>	Acide cyanurique	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.17 (0.1 - 0.28)	4	Office of pesticide programs 2000
	<i>Daphnia magna</i>	Acide cyanurique	EC <sub>50</sub> (72 h)	250	3	Proteau 1978
	<i>Daphnia magna</i>	2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine	EC <sub>50</sub> (24 h)	> 1 000	1	Degussa 1990b

<b>Poissons</b>	<i>Lepomis macrochirus</i>	Acide cyanurique	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.62	4	Office of pesticide programs 2000
	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	Chlorure cyanurique	LC <sub>50</sub> (48 h)	> 540	4	Degussa 1979
	<i>Poecilia reticulata</i>	2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine	LC <sub>50</sub> (96 h)	> 1000	1	Degussa 1990a
	<i>Salmo gairdneri</i>	Acide cyanurique	LC <sub>50</sub> (96 h)	1080	4	IUCLID 2000
	<i>Lepomis macrochirus</i>	Acide cyanurique	LC <sub>50</sub> (96 h)	1400	4	IUCLID 2000
	<i>Brachydanio rerio,</i> <i>Carassius auratus,</i> <i>Cyprinus carpio,</i> <i>Leuciscus rutilus,</i> <i>Salmo trutta fario,</i> <i>Tinca tinca</i>	Acide cyanurique	NOEC (31 j.) NOEC (21 j.) NOEC (31 j.) NOEC (31 j.) NOEC (42 j.) NOEC (31 j.)	> 2 000	3	Proteau 1978

#### Algues :

L'essai de toxicité aiguë de l'acide cyanurique (pureté de 99.7 %) sur *Selenastrum capricornutum* est cité dans la base de données IUCLID 2000 et dans le rapport d'évaluation des dangers de l'acide cyanurique (OECD 2001). Il a été mené par l'agence environnementale du Japon. Il est précisé que l'essai a été réalisé en accord avec les bonnes pratiques de laboratoire. Par ailleurs, il est spécifié que l'essai suit la ligne directrice OCDE 201 (1984). Les concentrations nominales testées sont : 62.5 mg/L, 125 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L et 1000 mg/L. Un suivi analytique des concentrations dans le milieu a permis de mettre en évidence que les algues ont été exposées à [98 % - 105 %] des concentrations nominales. L'effet sur la biomasse a été étudié. Une EbC<sub>50</sub> à 72h de 620 mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées. Il n'est pas précisé si une étude statistique a été réalisée.

*Aucune information n'est fournie quant aux résultats pour les groupes témoins. La publication originale n'a pu être consultée. Les experts suisses ont attribué un code de validité 4. Cependant, compte tenu de l'ensemble des informations disponibles, les résultats de cette étude seront utilisés pour cette fiche.*

#### Micro-crustacés :

Le test de Degussa 1990b sur la toxicité aiguë du 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine (pureté de 97.5 %) vis-à-vis de *Daphnia magna*, est cité dans le rapport BUA 1993 et dans le rapport d'évaluation des dangers de l'acide cyanurique (OECD 2001). Il a été réalisé suivant les lignes directrices 202 de l'OCDE et selon l'Annexe V C-2 du guide de la CE (système statique, pH de 8.2 - 8.3, température de 18 – 19 °C, dureté de 201 mg CaCO<sub>3</sub>/L, oxygène dissous de 95 % - 106 %). Une seule concentration limite de 1000 mg/L avec 2 réplicats et 10 organismes par réplicat ont été testés. Aucun effet sur la mortalité n'a pu être observé à cette concentration limite. Par ailleurs, un essai a été mené avec une substance de référence (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) et une EC<sub>50</sub> à 1.57 mg/L a été déterminée. Il n'y a pas eu de suivi analytique réalisé au cours du test mais des essais ultérieurs montrent qu'à 1000 mg/L, aucune perte de la substance n'est prévisible à 96 h.

*La publication originale n'a pu être consultée. Cependant, les experts suisses ont attribué une validité 1 à cette étude. Par conséquent, cette étude sera jugée valide.*

Les valeurs obtenues par l'Office of pesticide programs, 2000 sont très faibles comparativement aux autres résultats obtenus.

*Une erreur d'unité est à envisager, d'où l'impossibilité de valider ces résultats.*

L'essai aigu de Proteau, 1978 sur *Daphnia magna* (âgée de 72 h) a été réalisé dans le cadre d'une étude de la toxicité de l'acide cyanurique à court et long terme vis-à-vis du milieu aquatique. Le protocole expérimental et le matériel du test de toxicité aiguë sont ceux définis par la norme AFNOR T 90 301<sup>38</sup> avec quelques modifications : les récipients d'essai sont de petits aquariums en verre de 1.25 L de capacité, remplis à 1 L avec de l'eau de ville (25°C, pH = 7.8) et contenant 5 daphnies. Pendant 72 heures, l'essai a été effectué sans aération du milieu, ni alimentation des daphnies. Quatre concentrations d'essai (125, 250, 500 et 1000mg/L) ont été testées en 4 exemplaires chacune. Quatre contrôles ont également été réalisés. Aucun solvant n'a été utilisé. Le critère d'effet mesuré était l'immobilité. Les concentrations de départ et de fin d'expérience ont été systématiquement contrôlées et des analyses physico-chimiques du milieu ont été effectuées en cas de mortalité dans les témoins. Au bout de 48 et 72 heures, aucune mortalité dans les groupes témoins n'a été enregistrée et la teneur en O<sub>2</sub> dissous est restée supérieure à 80% de la saturation. L'analyse de l'eau de dilution en fin d'expérience (12 j.) a révélé la présence de chlore à une concentration de 0.05 à 0.1 mg/L. Dès 48 h d'exposition, la concentration testée la moins élevée a provoqué 5% de mortalité et au bout de 3 jours 50% des individus étaient morts à une concentration de 250 mg/L..

*Il est précisé que cet essai a été réalisé selon la norme AFNOR T 90 301. Pourtant un certain nombre de paramètres importants ne sont pas conformes à ceux préconisés par cette norme : l'âge des daphnies (devrait être <24h), l'utilisation d'eau de ville non déchlorée et la température (22°C max). Les auteurs ont remarqué un effet synergique de la chloration de l'eau sur la toxicité de l'acide cyanurique. Ce résultat ne sera donc pas retenu.*

#### Poissons :

Degussa 1979 a testé la toxicité aiguë du chlorure cyanurique sur *Leuciscus idus melanotus*. L'essai est cité dans le rapport BUA 1993 et dans le rapport d'évaluation des dangers de l'acide cyanurique (OECD 2001). Ceux-ci indiquent que l'essai a été réalisé suivant la norme DIN 38 412, Part 15 (DEV L 15). Les concentrations testées sont : 17.5 mg/L, 35 mg/L, 70 mg/L, 140 mg/L, 280 mg/L, 350 mg/L et 525 mg/L. Au bout de 48 heures d'exposition, aucun effet toxique n'a été observé à la plus forte concentration. Les paramètres physico-chimiques du milieu au cours de l'essai sont : température de 20±1 °C, pH de 7 – 8, dureté de 255 mg CaCO<sub>3</sub>/L et oxygène dissous > 64 %. D'où EC<sub>50</sub>(48 h) > 1000 mg/L.

*Les experts suisses ont seulement eu accès à un résumé de cette étude (essentiellement rapporté ci-dessus) et ont donc attribué une validité 4 à cette étude. En l'absence de la publication originale, la validité de cet essai ne peut être déterminé et le résultat n'est donné qu'à titre indicatif.*

Le test de Degussa 1990a sur la toxicité aiguë du 2-chloro-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazine (pureté de 97.5 %) vis-à-vis de *Poecilia reticulata*, est cité dans le rapport BUA 1993 et dans le rapport d'évaluation des dangers de l'acide cyanurique (OECD 2001). Il a été réalisé selon l'Annexe V C-1 du guide de la CE (équivalente à la ligne directrice 203 de l'OCDE) : système statique, pH de 8 - 8.4, température de 21 – 24 °C, dureté de 201 mg CaCO<sub>3</sub>/L, oxygène dissous de 88 % - 147 % ). Les concentrations testées sont comprises entre 0 et 1000 mg/L. Pour chaque concentration, trois réplicats ont été suivis et 10 organismes par réplicat ont été testés. Un suivi analytique quotidien des concentrations dans le milieu a permis de mettre en évidence que les organismes ont été exposés à [94% - 97 %] des concentrations nominales. Au bout de 96 heures d'exposition, aucun effet toxique n'a été observé à la plus forte concentration. D'où EC<sub>50</sub>(96 h) > 1000 mg/L.

---

<sup>38</sup> A.F.N.O.R. T 90 301 (1973). Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* S., crustacé cladocère. I.R.C.H.A.

La publication originale n'a pu être consultée. Cependant, les experts suisses ont attribué une validité 1 à cette étude. Par conséquent, cette étude sera jugée valide.

La valeur obtenue par l'Office of pesticide programs, 2000 est très faible comparativement aux autres résultats obtenus.

Une erreur d'unité est à envisager d'où l'impossibilité de valider le résultat.

Proteau, 1978, présente des résultats sur six espèces de poissons : *Brachydanio rerio*, *Carassius auratus*, *Cyprinus carpio*, *Leuciscus rutilus*, *Salmo trutta fario* et *Tinca tinca*. Pour toutes les espèces le protocole expérimental a été le suivant : division d'un lot de poissons de même provenance (acclimatés pendant 3 semaines et à jeun depuis au moins 48 heures) en un lot témoin et un lot expérimental comprenant chacun le même nombre de poissons, de taille et de poids comparables. De l'eau de ville déchlorée a été utilisée comme eau de dilution et aucun solvant n'a été utilisé. Le milieu était renouvelé toutes les semaines et aéré par un diffuseur d'air. Les poissons ont été exposés pendant environ 1 mois à une solution saturée d'acide cyanurique (2 g/L). L'alimentation des poissons a commencé après une semaine d'exposition. A la fin des différents tests, aucun effet léthal statistiquement significatif n'a été enregistré, ni d'effets comportementaux. Seuls quelques cas de mortalité ont été observés pour 3 espèces et coïncidaient avec des conditions de milieu critiques : faible taux d'oxygène, forte teneur en nitrites et ammoniacque (accumulation des déchets d'excrétion) et mauvaises conditions sanitaires. Dans ces conditions, la LC<sub>50</sub> ne peut pas être déterminée et une NOEC (≥ 21 j.) peut donc être définie comme > 2 000 mg/L.

Seule la concentration saturante (2000 mg/L) de l'acide cyanurique a été testée. Par ailleurs l'état sanitaire des poissons utilisés n'apparaissait pas satisfaisant. Cet essai est donc considéré comme non valide. Il permet néanmoins de conclure qu'il n'y a pas d'effet sur la mortalité des poissons à la concentration saturante d'acide cyanurique.

Les essais de toxicité aiguë sur *Salmo gairdneri* et sur *Lepomis macrochirus* sont cités dans la base de données IUCLID, 2000 mais n'ont pas été consultés dans les publications originales. Les résultats obtenus ne sont donc donnés qu'à titre indicatif.

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Substance	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus sp.</i> <i>Chlorella sp.</i> <i>Ankistrodesmus sp.</i> <i>Oocystis lacustris</i> <i>Oocystis crassa</i>	Acide cyanurique	NOEC (7 j.) NOEC (28 j.)	> 2000	3	Proteau 1978
	<i>Vallisneria sp.</i> <i>Elodea canadensis</i>	Acide cyanurique	NOEC (65 j.)	> 2 000	3	Proteau 1978
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Acide cyanurique	NOEC <sub>b</sub> (72 h)	62.5	2	Environment Agency Japan 1985 cité dans OECD 2001
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	Acide cyanurique	NOEC (8 j.)	500	3	Proteau 1978
Mollusques	<i>Vivipara vivipara</i>	Acide cyanurique	NOEC (75 j.)	250	3	Proteau 1978

	<i>Anodonta cygnea</i>	Acide cyanurique	NOEC (75 j.)	250	3	Proteau 1978
	<i>Planorbis sp.</i>	Acide cyanurique	NOEC (98 j.)	250	2	Proteau 1978
	<i>Anodonta cygnea</i>	Acide cyanurique	LT <sub>50</sub> =70 j. LT <sub>50</sub> =39 j.	500 2000	3	Kugler-Laffont, 1988
	<i>Anodonta sp.</i>	Acide cyanurique	LT <sub>50</sub> =12 j.	500	3	APC 1979
	<i>Unio sp.</i>	Acide cyanurique	LT <sub>50</sub> =14 j.	500	3	APC 1979
	<i>Anodonta sp.</i>	Acide cyanurique	LT <sub>50</sub> =35 j.	1000	3	APC 1979
	<i>Dreissena polymorpha</i>	Acide cyanurique	LT <sub>50</sub> =17 j.	1000	3	Dugelay et al. 1986
	<i>Anodonta sp.</i> <i>Dreissena sp.</i> <i>Vivipara vivipara</i>	Acide cyanurique	LT <sub>100</sub> =65 j.	2000	3	Proteau 1978
<b>Poissons</b>	<i>Brachydanio rerio</i>	Acide cyanurique	NOEC	< 2000	3	Proteau 1978

#### Algues :

Proteau, 1978 a réalisé un essai de toxicité chronique de l'acide cyanurique sur plusieurs espèces d'algues d'eau douce : *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.*, *Ankistrodesmus sp.*, *Oocystis lacustris* et *Oocystis crassa*. Les conditions du milieu étaient statiques et aucun solvant n'a été ajouté à la solution d'essai. Les algues ont été placées dans des récipients d'essai de 2 L à 20°C et exposées pendant 28 jours à une concentration saturante en acide cyanurique, sans apport nutritionnel. L'éclairage a été assuré en continu par une rampe de 2 tubes fluorescents de 40 watts. Un groupe témoin a été réalisé. Les comptages d'algues ont été faits au bout de 7 jours et de 28 jours d'exposition révélant une forte diminution du nombre d'algues dans le milieu témoin (-75% au bout de 7 j. et -92% au bout de 28 j.) supérieur à celle obtenue dans le milieu traité (-34% au bout de 7 j. et -58.2% au bout de 28 j.). Une NOEC (7 j. et 28 j.) > 2000 mg/L peut donc être proposée.

*De par son protocole expérimental (les algues n'étaient pas en phase de croissance exponentielle, seule une concentration a été testée...) cet essai ne peut être validé et les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

Proteau, 1978 a réalisé un test sur écosystème reconstitué où des organismes appartenant à trois niveaux trophiques différents (algues, mollusques et poissons) ont été réunis dans un aquarium expérimental de 40 L, en verre collé, avec fond de vase, graviers et sable. Les espèces *Vallisneria sp.* et *Elodea canadensis* représentaient les algues et ont été exposées à une solution saturée d'acide cyanurique pendant 2 mois (65 jours). L'eau du milieu était de l'eau de ville maintenue à 20-22°C, aérée et de pH égal à 6.2 après dissolution de l'acide cyanurique. Un éclairage constant a été assuré. Le milieu était renouvelé une fois par semaine. A terme, une absence de toxicité de l'acide cyanurique sur les algues a été observée, de même vis à vis des poissons. Une NOEC (65 j.) > 2000 mg/L peut donc être proposée.

*De par son protocole expérimental, cet essai ne peut être validé et les résultats obtenus ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

L'essai de toxicité sur *Selenastrum capricornutum* cité dans OECD 2001 est décrit plus haut.

*Compte tenu de l'ensemble des informations disponibles, cette étude est jugée valide avec restrictions.*

#### Micro-crustacés :

L'essai chronique de Proteau, 1978 sur des daphnies adultes (âgées de 10 j.), provenant d'une même population, a été réalisé dans des conditions de milieu aérées et semi-statiques : 30% du milieu était renouvelé tous les 7 jours. Les récipients d'essai (aquariums en verre collé) de 1.25 L étaient remplis à 1 L avec de l'eau de synthèse définie par la norme AFNOR T 90 301. Chaque récipient d'essai était aéré et soumis à un éclairage naturel. Le test a duré 18 jours mais les analyses n'ont portées que sur 8 jours (du 5<sup>ème</sup> au 13<sup>ème</sup> jour d'exposition). Les daphnies étaient alimentées tous les jours avec une goutte d'un mélange glucose-extrait de viande. Quatre concentrations d'essai (125, 250, 500 et 1000 mg/L) ont été testées, chacune en 4 exemplaires, et des contrôles ont également été réalisés. Le nombre de jeunes daphnies produites a été enregistré sur 8 jours. La saturation en oxygène est restée supérieure à 70% au cours de l'essai. Aucune mortalité n'a été enregistrée chez les adultes et les jeunes, aussi bien dans le milieu témoin qu'expérimental. Les concentrations de départ et de fin d'expérience ont été systématiquement contrôlées et en cas de mortalité dans les témoins des analyses physico-chimiques du milieu ont été effectuées. Le critère d'effet mesuré était la vitesse de croissance instantanée de la population qui intègre le nombre cumulé moyen de descendants vivants produits par animal sur 8 jours. Il n'y a pas eu d'effet observé à une concentration de 500 mg/L après 8 jours.

*Un certain nombre de paramètres importants ne sont pas conformes à ceux préconisés par la Ligne directrice 211 de l'OCDE : la durée de l'essai, le mode opératoire de renouvellement du milieu, l'aération du milieu, l'âge des daphnies, l'alimentation des daphnies, le critère d'effet mesuré et le nombre de concentration testée. Cet essai n'est donc pas considéré comme valide.*

#### Mollusques :

APC, 1979 a réalisé des essais de toxicité de l'acide cyanurique sur des mollusques en milieu aéré et non aéré, dans le cadre d'un brevet d'invention sur un procédé de destruction des mollusques. Deux espèces ont été testées, *Anodonta sp.* et *Unio sp.*, dans des conditions de milieu statiques. Pour chaque essai un groupe témoin a été réalisé. En milieu non aéré (3-5 mg/L d' O<sub>2</sub> dissous), un unio et un anodonte de taille et poids équivalents (longueur 10.5 ± 1 cm, poids 140 ± 1 g) ont été placés dans le même récipient d'essai (15 L) et exposés à 500 mg/L d'acide cyanurique. Il a été obtenu un temps léthal moyen de 14 j pour *Unio sp.* et de 12 j pour *Anodonta sp.* En milieu aéré (6.5 mg/L d' O<sub>2</sub> dissous) des effets létaux ont été observés à 1000 mg/L et le temps léthal moyen a été déterminé à 35 j pour *Anodonta sp.*

*Le protocole expérimental est peu détaillé et insatisfaisant. Les résultats de ces tests ne sont donnés qu'à titre indicatif.*

L'essai de Dugelay *et al.*, 1986 sur *Dreissena polymorpha* (âgé de 3 à 4 ans, 20 à 30 mm) a été réalisé dans des conditions semi-statiques (renouvellement complet du milieu toutes les semaines). La pureté de l'acide cyanurique était ≥ à 95 %. Les organismes ont subi une période d'acclimatation de une semaine dans des aquariums de 1 L (10 individus/aquarium) puis ont été sélectionnés en fonction de leur réactivité et de la sécrétion des filaments du byssus. Trois concentrations ont été testées, 500, 1000 et 2000 mg/L. 30 individus ont été testés par concentration d'essai à raison de 10 dresseines par litre. Un groupe témoin a également été réalisé. La concentration en O<sub>2</sub> dissous est restée ≥ à 70% de la saturation grâce à un dispositif d'aération. Le pH s'est échelonné de 6.2 à 7.8. Le critère d'effet mesuré était la mortalité définie par une absence de réaction au resserrement des valves. La toxicité a été déterminée par rapport aux temps moyens létaux.

- à 500 mg/L, LT<sub>50</sub> = 49 j., LT<sub>10</sub> = 37 j
- à 1000 mg/L, LT<sub>50</sub> = 17 j, LT<sub>10</sub> = 8 j

- à 2000 mg/L,  $LT_{50} = 16$  j,  $LT_{10} = 7$  j

*L'essai est bien renseigné mais l'absence de suivi analytique ne permet pas de prévoir les concentrations effectives d'acide cyanurique. De plus, la méthode de détermination de la toxicité n'est pas pertinente pour la détermination d'une PNEC : ce sont des temps létaux qui ont été déterminés plutôt que des NOEC. Les résultats obtenus ne sont donc donnés qu'à titre indicatif.*

Kugler-Laffont and Rouquier-Fourmaud, 1988 ont réalisé un essai sur *Anodonta cygnea* (10 - 18 cm) dans des conditions de milieu semi-statiques (renouvellement périodique). Les organismes ont été maintenus dans des aquariums à fond nu, de 5 à 10 L, couverts. Une pompe à air a maintenu par bullage une valeur en O<sub>2</sub> dissous proche de la saturation et la température a été maintenue constante à 20°C. Deux concentrations ont été testées : 500 et 2000 mg/L. Une  $LT_{50}$  de 70 j a été déterminé pour la concentration de 500 mg/L et une  $LT_{50}$  de 39 j pour la concentration de 2000 mg/L. Dans une autre expérience, des effets histologiques ont été observés dès 250 mg/L.

*Le protocole expérimental est peu détaillé et globalement insatisfaisant. En effet, aucune information n'est fournie sur le nombre d'organismes testés, la présence de contrôle témoin, de réplicat et seulement deux concentrations d'essai ont été testées. La méthode de détermination de la toxicité n'est pas pertinente pour la détermination d'une PNEC : ce sont des temps létaux qui ont été déterminés plutôt que des NOEC. Le résultat n'est, par conséquent, pas utilisable.*

Le test sur écosystème reconstitué de Proteau, 1978, comprenait *Anodonta sp.*, *Dreissena sp.* et *Vivipara vivipara* comme espèces représentantes des mollusques. Au bout de 65 jours d'exposition, l'acide cyanurique à concentration saturante a entraîné la mort de tous les mollusques.

*Ce résultat n'est donné qu'à titre indicatif.*

Proteau, 1978 a réalisé des tests de toxicité sur des mollusques dulçaquicoles (suite au test sur écosystème reconstitué où l'acide cyanurique à concentration saturante avait provoqué des effets létaux seulement chez les mollusques). Quatre espèces de mollusques ont été étudiées, *Anodonta cygnea*, *Vivipara vivipara*, *Planorbis sp.* et *Dreissena polymarpha*, en milieu statique (st) et dynamique (d). Pour tous les essais, la teneur en O<sub>2</sub> dissous est restée supérieure à 6.5 mg/L et les mollusques étaient nourris une fois par jour, par des infusoires séchés. Des contrôles ont été réalisés. La mortalité était enregistrée tous les jours et les temps létaux moyens ont été calculés.

En milieu statique (25 L d'eau de ville déchlorée, milieu aéré, T= 19 – 21 °C), 4 concentrations ont été testées (125, 250, 500 et 1000 mg/L), chacune en trois exemplaires. 5 anodontes, 5 vivipares et 3 dresseniens ont été placés dans le même récipient d'essai et testés. La durée du test était de 75 jours. Les concentrations et le pH ont été contrôlés au début et en cours d'expérience (au 57<sup>ème</sup> jours).

Des pertes importantes de substances ont été constatées (en moyenne 84%) par l'analyse chimique. Pour *Dreissena polymarpha* une mortalité parmi les témoins supérieure à 20% a été observée. Au bout de 75 jours, aucun effet sur la mortalité n'a été observé pour une concentration de 250 mg/L pour *Anodonta cygnea* et *Vivipara vivipara* en milieu statique.

En milieu dynamique (20 L d'eau de ville déchlorée, milieu aéré, T= 20 ± 1 °C), seulement deux concentrations d'essai (1000 et 2000 mg/L) ont été testées. 5 anodontes et 5 vivipares ont été placés dans le même récipient d'essai et testés. La durée du test était de 60 jours. La mortalité dans les groupes témoin n'a pas excédé 10%. Les  $LT_{50}$  obtenues en milieu dynamique sont :

- $LT_{50} = 42.3$  j à 1000 mg/L pour *Anodonta cygnea*.

- $LC_{50} = 43.6$  j. à 1000 mg/L pour *Vivipara vivipara*

L'étude de la toxicité de l'acide cyanurique pour *Planorbis sp.* a été réalisée en milieu statique : 1 L d'eau de ville déchlorée, milieu aéré, T= 20 – 22 °C. 5 concentrations d'essai ont été testées (125, 250, 500, 1000 et 2000 mg/L), chacune en trois exemplaires. Trois planorbes ont été placés par bac. Les concentrations d'essai ont été contrôlées plusieurs fois au cours des 98 jours de test, ainsi que les teneurs en O<sub>2</sub> dissous, la résistivité et le pH. Au bout de 98 jours, aucune mortalité n'a été enregistrée dans les groupes témoins. Aucun effet sur la mortalité n'a été observé au bout de 98 j pour une concentration de 250 mg/L. Mais il a été constaté que la substance n'a pas induit d'effet sur la reproduction des individus, mais en revanche les jeunes produits n'ont pas pu se développer normalement et ont tous finis par mourir pour toute les concentrations testées, dès 125 mg/L.

Pour toutes les espèces, des effets sur la coquille (attaque progressive de la coquille) ont été constatés pour toutes les concentrations testées (dès 125 mg/L).

*Le protocole expérimental réalisé pour les essais sur Anodonta cygnea, Vivipara vivipara et Dreissena polymaropha n'est pas satisfaisant et les résultats obtenus ne sont donc pas valides. Par contre, l'essai sur Planorbis sp. est bien renseigné et le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant. Le suivi analytique révèle une diminution des concentrations d'essai au cours du temps supérieure à 20% seulement pour les essais réalisés à 500mg/L. Compte-tenu de cette remarque et du critère d'effet mesuré, les résultats sur Planorbis sp. seront considérés sous cette restriction.*

#### Poissons :

Proteau, 1978 a réalisé un test sur la mortalité et la croissance du *Brachydanio rerio* dès les premiers stades de vie. 100 œufs ont été placés dans un aquarium à 25 °C et exposés à de l'acide cyanurique à concentration saturante pendant deux mois. Le milieu était aéré. Un groupe témoins comportant le même nombre d'œufs a également été réalisé. Au bout d'un mois, la mortalité a été enregistrée. A la fin du test (55 j.), la mortalité a de nouveau été enregistrée et les poissons vivants ont été mesurés. Cet essai révèle que l'acide cyanurique à concentration saturante a une influence significativement négative sur la croissance des alevins du *Brachydanio rerio*.

*Cet essai ne permet pas de déterminer une NOEC. De plus, un grand nombre d'informations cruciales sont manquantes. Cet essai n'est donc pas utilisable.*

### **3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>**

Nous disposons de trois données de toxicité aiguë valides pour les trois niveaux trophiques. En chronique, des données valides pour les algues et un mollusque ont été trouvées. Au vu des données disponibles, il apparaît que les algues sont les plus sensibles avec une NOEC<sub>b</sub> (NOEC basée sur les effets sur la biomasse) de 62.5 mg/L. Seul ce résultat sur la biomasse est disponible ; la NOEC basée sur l'inhibition du taux de croissance est généralement supérieure et est utilisée préférentiellement pour dériver la PNEC. Cette information n'est pas donnée, et la PNEC<sub>aqua</sub> sera dérivée avec la NOEC<sub>b</sub>.

Conformément à la table 16 du TGD (E.C. 2003), il est donc proposé de calculer la PNEC en appliquant un facteur de sécurité de 50 sur la valeur de 62.5 mg/L, soit :

$$PNEC_{aqua} = 1.25 \text{ mg/L}$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

APC (1979). Azote et Produits Chimiques S.A., résidant en France, N°2413882, Labat, R; Proteau, J.-P., Institut National de la Propreté Industrielle, Paris.

BUA (1993). Cyanuric chloride (2,4,6-Trichloro-1,3,5-triazine). BUA Report 125, GDCh-Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance.

Degussa, A. (1979). unveröffentlicht: Bericht über die Überprüfung von 2,4,6-Trichlor-1,3,5-triazin auf toxikologisches Verhalten gegenüber Fischen und Bakterien und Bestimmung der Parameter zur Kennzeichnung des "Abwasserverhaltens", Bericht: Degussa AG - US-IT-Nr.

Degussa, A. (1990a). unveröffentlicht: 96-hour acute toxicity study in the Guppy with 2-Chlor-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazin, Mononatriumsalz., Bericht: Degussa AG - US-IT-Nr.

Degussa, A. (1990b). unveröffentlicht: Acute toxicity study in *Daphnia magna* with 2-Chlor-4,6-dihydroxy-1,3,5-triazin, Mononatriumsalz., Bericht: Degussa AG - US-IT-Nr.

Dugelay, R., P. Ilieff and A. Belaud (1986). "Action de l'acide cyanurique, de ses sels et de ses dérivés sur *Dreissena polymorpha pallas* (Mollusque lamellibranche)." Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse 122: 87-94.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

Environment Agency Japan (1985). Chemicals in the environment: report on environmental survey and wildlife monitoring in F.Y.: 1-76.

HSDB (2000). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

IUCLID (2000). International Uniform Chemical Information Database.

Kugler-Laffont, J. and A. Rouquier-Fourmaud (1988). "Bio-accumulation de l'acide cyanurique chez les mollusques bivalves et conséquences histologiques de sa toxicité chez *Anodonta cygnea*." Bull. Soc. Hist. Nat., Toulouse 124: 101-106.

OECD (2001). SIDS Initial Assessment Report for cyanuric chloride (108-77-0).

Office of pesticide programs (2000). Pesticide Ecotoxicity Database. Washington D.C., Environmental Fate and Effects Division, US-EPA.

Proteau, J.-P. (1978). Recherches sur la toxicité de l'acide cyanurique et du phosphogypse au niveau des écosystèmes aquatiques, Institut National Polytechnique de Toulouse: 250 p.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,

Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 4th Edition. New York, NY,, Van Nostrand Reinhold Co.

# 1,2 Dibromoéthane – n° CAS 106-93-4

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	187.9 g/mol
Point de fusion :	10 °C (Verschueren, 1983)
Point d'ébullition :	131.6 °C (Verschueren, 1983)
Pression de vapeur :	1466 Pa (Verschueren, 1983)
Solubilité :	4310 mg/L (Verschueren, 1983)
Log Kow :	1.96 (Hansch <i>et al.</i> , 1995)
Constante de Henry :	66 Pa.m <sup>3</sup> /mol (HSDB, 2003)

Les valeurs de solubilité, de pression de vapeur et de constante de Henry indiquent que le 1,2 dibromoéthane est une substance très soluble et très volatile. L'étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac a montré des temps de 1/2 vie de 2.6 h et 6 jours, respectivement (Lyman *et al.*, 1990). Un log Koc de 1.7 (Verschueren, 1983) ne laisse pas prévoir d'adsorption du 1,2 dibromoéthane.

Des précautions particulières doivent être prises lors de la réalisation des essais d'écotoxicité afin de limiter la perte du produit par volatilisation (essais en système clos, renouvellement des milieux d'essai, suivi analytique...).

### 1.2 Persistance

Il semble que le 1,2 dibromoéthane se dégrade rapidement en condition aérobie (temps de 1/2 vie de l'ordre de plusieurs jours) et plus lentement en condition anaérobie (temps de 1/2 vie de l'ordre de plusieurs semaines) (HSDB, 2003). Dans des conditions standard, son hydrolyse en éthylène glycol et bromoethanol présente un temps de 1/2 vie de 5-10 jours environ (Verschueren, 1983). Le phénomène de photolyse apparaît négligeable (HSDB, 2003).

### 1.3 Bioaccumulation

Un essai de 6 semaines sur *Cyprinus carpio* a permis de trouver des BCF compris entre 1 et 15 (MITI, 1992). La bioconcentration du 1,2 dibromoéthane n'est donc pas très importante chez les organismes aquatiques.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Skeletonema costatum</i> *	EC50(7 j) croissance	4	3	Erickson <i>et al.</i> , 1978
Cnidaires	<i>Hydra oligactis</i>	LC50 (72 h)	50	3	Hering <i>et al.</i> , 1988
	<i>Hydra oligactis</i>	LC50 (48 h)	70		
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC50 (24 h) EC50 (24 h)	119 25	4	Trenel <i>et al.</i> , 1982
Poissons	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC50 (48h)	4.8	3	Landau <i>et al.</i> , 1984
	<i>Centropomus undecimalis</i> *	LC50 (48h)	6.2		
	<i>Micropterus salmoides</i>	LC50 (48h)	15	3	Davis <i>et al.</i> , 1959
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC50 (48h)	18		
	<i>Oryzias latipes</i>	LC50 (96 h)	32.1 (27.6 – 37.4)		

\* espèces marines

#### Algues :

Erickson et Freeman (1978) ont étudié l'effet du 1,2 dibromoéthane sur 4 espèces de phytoplancton marin, dont la diatomée *Skeletonema costatum*. L'essai a été réalisé en tubes à essai de 10 mL munis de bouchons en polyéthylène perméables au gaz. Le milieu d'essai était constitué d'eau marine (salinité ramenée à 25 ‰) filtrée à 0.22 µm et à laquelle ont été ajoutés certains nutriments. Au total, huit concentrations ont été testées et trois réplicats. L'essai s'est déroulé à 20 ± 2 °C, sous éclairage continu. Durant 7 jours, la croissance de *Skeletonema costatum* a été comparée à celle des témoins par mesure de densité optique et une EC50 nominale de 4 mg/L a pu être déterminée. Il n'y a pas eu de suivi analytique.

*Très peu d'informations sont fournies quant au suivi des paramètres physico-chimiques (pH, dureté, oxygène dissous...). Par ailleurs, l'utilisation de bouchons perméables n'empêche pas une certaine perte du 1,2 dibromoéthane qui n'a pu être quantifiée du fait de l'absence de suivi analytique. Cet essai est donc invalidé.*

#### Cnidaires :

Hering *et al.* (1988) ont réalisé un essai de toxicité aiguë sur des *Hydra oligactis*. Au total, sept groupes de 25 organismes chacun, avec des duplicats, ont été testés à des concentrations de 7.5, 18.5, 30, 41.25, 52.5, 63.75 et 75 mg/L de 1,2 dibromoéthane. Quotidiennement, les hydres ont été nourries et les milieux renouvelés. Un solvant, l'acétone, a été utilisé dans un rapport 19 : 1 (acétone : eau) afin d'assurer une bonne homogénéité des milieux d'essai. Un groupe témoin supplémentaire exposé à 1500 mg/L d'acétone a été réalisé. Aucune différence significative n'a été observée entre le groupe témoin non contaminé et le groupe témoin « acétone ». La mortalité a été relevée au bout de 48 h et 72 h. et l'analyse probit des données a permis de déterminer une LC 50 à 48 h de 70 mg/L et une LC 50 à 72 h de 50 mg/L.

*L'étude ne précise pas si l'essai a été réalisé en système clos ou ouvert. Aucun renseignement n'est fourni quant à la détermination des paramètres physico-chimiques (dureté de l'eau, pH, oxygène...). Enfin, aucun suivi analytique n'a été effectué. Pour toutes ces raisons, l'essai n'est pas jugé valide.*

#### Micro-crustacés :

L'essai de Trenel & Kühn (1982) sur *Daphnia magna* a été réalisé dans des conditions statiques.

*Il n'a pas été possible de juger de la validité de cet essai compte tenu de l'indisponibilité du rapport.*

### Poissons :

Davis *et al.* ont testé le 1,2 dibromoéthane sur *Lepomis macrochirus* et *Micropterus salmoides* au cours d'un essai réalisé dans des aquariums jetables en carton plastifié type « TetraPack ». Le pH et l'oxygène dissous ont fait l'objet d'un suivi régulier au cours du test. Le milieu d'essai est de l'eau provenant de deux rivières de Louisiane (Etats Unis). Les organismes ont été acclimatés durant 24 h avant la réalisation du test. 10 poissons ont été placés dans chaque aquarium de 25 L, chaque concentration ayant 4 réplicats. Le milieu a été aéré et maintenu à  $25 \pm 1$  °C.

*L'essai est très peu renseigné, aucune information n'est donnée quant aux témoins. Par ailleurs, aucune mesure n'a été prise afin d'éviter la volatilisation de la substance et il n'y a pas eu de suivi analytique. Enfin, il n'est pas assuré que les récipients utilisés en guise d'aquarium soient constitués d'un matériau inerte. Pour toutes ces raisons, l'essai n'est pas jugé valide.*

L'essai d'Holcombe *et al.* sur *Oryzias latipes* a été conduit en récipients fermés selon les recommandations de « The American Society for Testing and Materials » (1980). Un système de renouvellement continu (25 mL/min) a été utilisé et un suivi analytique a été réalisé. Le milieu d'essai a été confectionné à partir d'eau naturelle filtrée. La dureté totale a été déterminée à 45.8 mg/L CaCO<sub>3</sub>, l'alcalinité à 45.9 mg CaCO<sub>3</sub>/L et la concentration en oxygène dissous à  $6.8 \pm 0.7$  mg/L. Au cours de l'essai, le pH s'est échelonné entre 7.31 et 8.85, la température étant maintenue à  $25 \pm 1$  °C. Une lumière artificielle (16 h de lumière, 8 h d'obscurité) a été utilisée. Les organismes testés sont âgés de 28 à 43 jours (masses comprises entre 18 et 71 mg) et n'ont pas été nourris 24 h avant et pendant l'essai. Des groupes de 20 individus ont été exposés à 5 concentrations (facteur de dilution = 0.5), chaque réplicat ne contenant que 10 organismes. Un groupe témoin a également été réalisé. Aucune mortalité n'est apparue dans ce lot. Au bout de 96 h, la LC50 a été déterminée à 32.1 mg/L (intervalle de confiance à 95% : 27.6 - 37.4 mg/L).

*L'essai est bien renseigné, et les informations fournies apparaissent satisfaisantes. Toutes les précautions relatives à la volatilité de la substance ont été prises. Cet essai est considéré comme valide.*

Landau *et al.* ont réalisé des essais en conditions statiques sur *Centropomus undecimalis* et *Cyprinodon variegatus* appartenant tous au stade juvénile. Le milieu d'essai était de l'eau de mer filtrée et diluée au 10<sup>0</sup>/<sub>∞</sub> dans lequel a été ajouté le 1,2 dibromoéthane dilué dans de l'acétone. Le test a été conduit sous éclairage continu à  $24.4 \pm 1.5$  °C. Les essais ont été réalisés dans des béciers en plastique contenant chacun 8 L de milieu. Pour l'essai sur *Centropomus undecimalis*, 6 organismes ont été testés par bécier et exposés à cinq concentrations (0.04 ; 0.2 ; 1 ; 5 ; 10 mg/L). Pour l'essai sur *Cyprinodon variegatus*, 5 organismes ont été testés par bécier et exposés à cinq concentrations (0.1 ; 1 ; 10 ; 25 ; 50 mg/L). Pour les deux essais, deux groupes témoins ont été réalisés, un pour l'acétone et l'autre pour l'eau de mer seule. Au bout de 48 h, une LC50 de 6.2 mg/L pour *Centropomus undecimalis* et de 4.8 mg/L pour *Cyprinodon variegatus* a été calculée. Il n'y a pas eu de suivi analytique.

*Les résultats de cet essai sont très faibles. Ceci peut peut-être s'expliquer par le fait que ce sont des poissons juvéniles qui ont été testés. Ceux-ci n'ont donc pas pu être acclimatés comme le préconisent les lignes directrices OCDE pour l'essai aigu sur poissons. Par ailleurs, aucune mesure visant à limiter les pertes par volatilisation de la substance n'a été prise. En conséquence, cet essai n'est pas jugé valide.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC03 (7 j)	266	3	Trenel <i>et al.</i> , 1982
Poissons	<i>Oryzias latipes</i>	NOEC (28 j) croissance	5.81	2	Holcombe, 1995

### Algues :

Trenel et Kühn, 1982 : La durée d'exposition est de 7 jours et l'effet mesuré est l'histologie algale.

*La durée de l'essai apparaît trop longue : il n'est pas assuré que les algues se trouvaient encore en condition de croissance exponentielle.s. Cet essai n'est pas jugé valide.*

### Poissons :

L'essai chronique d'Holcombe *et al.* sur *Oryzias latipes* a été conduit dans les mêmes conditions que l'essai aigu décrit plus haut. Les organismes testés étaient des larves âgées de 0 à 3 jours. Des groupes de 60 individus ont été exposés à 5 concentrations différentes (facteur de dilution entre chaque concentrations = 0.5), chaque concentration disposant d'un réplicat. Un groupe témoin a également été réalisé. Au cours des 28 jours de test, les organismes ont été nourris 3 fois par jour avec des crevettes vivantes, du lundi au vendredi . Au terme de l'essai, les individus ont été pesés et une NOEC de 5.81 mg/L a pu être déterminée.

*L'essai est bien renseigné, et les informations fournies apparaissent satisfaisantes. Toutes les précautions relatives à la volatilité de la substance ont été prises. Cet essai est considéré comme valide avec restriction du fait de l'absence de nourriture administrée le week-end.*

## 3. DETERMINATION DE LA PNECAQUA

On ne dispose de données valides que pour les poissons aussi bien en aigu qu'en chronique. Les données bibliographiques sur cette substance sont insuffisantes pour pouvoir en dériver une PNEC.

Le 1,2-dibromoéthane est une substance volatile et carcinogène, elle est donc surtout problématique pour la production d'eau potable. Il existe des recommandations provisoires pour l'eau potable de l'OMS (0.4 µg/L) ou de l'US-EPA de (0.05 µg/L).

## 4. BIBLIOGRAPHIE

Davis, H. C. and W. S. Hardcastle (1959). "Biological Assay of Herbicides for Fish Toxicity." Weeds 7: 397-404.

Erickson, S. T. and A. E. Freeman (1978). "Toxicity screening of fifteen chlorinated and brominated compounds using four species of marine phytoplankton." Ann Arbor Sci. 2: 307 - 310.

Hansch, C., *et al.* (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and steric constants. Washington, DC., American Chemical Society: 6.

Hering, J. G. and F. M. M. Morel (1988). "Dose-Response Studies Using Ethylene Dibromide (EDB) in *Hydra Oligactis*." Bull Environ Contam Toxicol 40(1): 35-40.

Holcombe, G. W. (1995). "Acute and Long-Term effects of nine chemicals on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*)." Arch Environ Contam Toxicol 28: 287-297.

HSDB (2003). Hazardous Substances DataBase, National Library of Medicine. 2004. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

Landau, M. and J. Tucker (1984). "Acute Toxicity of EDB and Aldicarb to Young of Two Estuarine Fish Species." Bull Environ Contam Toxicol 33: 127-132.

Lyman, W. J., *et al.* (1990). Handbook of chemical property estimation methods. Washington DC., American Chemical Society.

MITI (1992). Biodegradation and bioaccumulation data of existing chemicals based on the Chemical Substances Control Law (CSCL). Japan, Chemicals Inspection and Testing Institute (CITI) from the Ministry of International Trade and Industry.

Trenel, J. and R. Kühn (1982). "Bewertung Wassergefährdender Stoffe im Hinblick auf Lagerung, Umschlag und Transport." Inst. Wasser- Boden- Lufthyg. Bundesgesundheitsamt: 12-14, 25-27, Anlage 2 (23-28), Anlage 4 (1-5).

Verschueren, K. (1983). Handbook of Environmental Data of Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.

# Dichloro-di-isopropyl éther– n° CAS 108-60-1

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	171.07 g/mol
Point de fusion :	-96.8 °C
Point d'ébullition :	187 °C (Lide, 1995-1996)
Pression de vapeur :	113.31 Pa
Solubilité :	1700 mg/L
Log Kow :	2.48
Constante de Henry :	11.4 Pa.m <sup>3</sup> /mol

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

Aucune donnée d'écotoxicité valide n'a été trouvée dans la littérature pour cette substance

## 3. DETERMINATION DE LA PNECAQUA

Il n'est pas possible de dériver une PNEC pour cette substance.

## 4. BIBLIOGRAPHIE

Lide, D. R. (1995-1996). CRC-Handbook of chemistry and physics. Boston, CRC-press, Boca Raton, FL.

## Dichloronitrobenzènes

Pour la Directive 76/464/CEE, une norme de qualité pour la famille des dichloronitrobenzènes est demandée. Les données écotoxicologiques sont disponibles pour chaque isomère. Si la proportion de chaque isomère est inconnue pour les dichloronitrobenzènes mesurés dans le milieu, alors la PNEC la plus faible obtenue parmi l'ensemble des isomères devra être prise pour représenter la PNEC pour la famille.

Les données écotoxicologiques présentées sont issues des rapports d'évaluation établis dans le cadre des travaux OCDE pour les substances produites à fort tonnage (programme HPVC de l'OCDE). Ces données ont été approuvées par les experts des différents pays membres de l'OCDE. Elle seront donc utilisées sans validation supplémentaire.

### 1. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES

#### 1.1 3,4-Dichloronitrobenzène - n° CAS : 99-54-7

<i>Unités, mg/L</i>	Eau douce	Eau marine	<i>Unités, mg/L</i>	Eau douce	Eau marine
CL/CE50 algues ( <i>Chlorella fusca</i> )	0.32	-	NOEC/CE10 algues ( <i>Scenedesmus subspicatus</i> )	> 0.1	-
CL/CE50 invertébrés ( <i>Daphnia magna</i> )	3	-	NOEC/CE10 invertébrés ( <i>Daphnia magna</i> )	0.025	-
CL/CE50 poissons ( <i>Leuciscus idus</i> )	3.1	-	NOEC/CE10 poissons	-	-

#### 1.2 2,4-Dichloronitrobenzène - n° CAS : 611-06-3

<i>Unités, mg/L</i>	Eau douce	Eau marine	<i>Unités, mg/L</i>	Eau douce	Eau marine
CL/CE50 algues ( <i>Selenastrum capicornutum</i> )	2	-	NOEC/CE10 algues ( <i>Selenastrum capicornutum</i> )	1.8	-
CL/CE50 invertébrés ( <i>Daphnia magna</i> )	12	-	NOEC/CE10 invertébrés ( <i>Daphnia magna</i> )	0.056	-
CL/CE50 poissons ( <i>Oryzias latipes</i> )	13	-	NOEC/CE10 poissons	-	-

#### 1.3 2,3-Dichloronitrobenzène - n° CAS : 3209-22-1

<i>Unités, mg/L</i>	Eau douce	Eau marine	<i>Unités, mg/L</i>	Eau douce	Eau marine
CL/CE50 algues ( <i>Selenastrum capicornutum</i> )	15	-	NOEC/CE10 algues	-	-
CL/CE50 invertébrés ( <i>Daphnia magna</i> )	5	-	NOEC/CE10 invertébrés ( <i>Daphnia magna</i> )	< 0.06	-
CL/CE50 poissons ( <i>Poecilia reticulata</i> )	4.516	-	NOEC/CE10 poissons	-	-

## 2. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

### 2.1 3,4-Dichloronitrobenzène - n° CAS : 99-54-7

L'OECD, 2003 a déterminé la PNEC aquatique en appliquant à la plus faible valeur chronique un facteur d'extrapolation de 50, soit  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.025/50$  mg/L. Cette dérivation de la PNEC est conforme à la méthode établie par la communauté européenne (E.C., 2003, Table 16 du TGD). On a donc :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 0.5 \mu\text{/L}$$

### 2.2 2,4-Dichloronitrobenzène - n° CAS : 611-06-3

L'OECD, 1996b a déterminé la PNEC aquatique en appliquant à la plus faible valeur chronique un facteur d'extrapolation de 10, soit  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.056/10 = 0.0056$  mg/L. Or, cette dérivation de la PNEC n'est pas conforme à la méthode établie par la communauté européenne. La PNEC<sub>aqua</sub> proposée par l'INERIS sera donc déterminée suivant la Table 16 du TGD (E.C., 2003) en appliquant à la plus faible NOEC un facteur d'extrapolation de 50 :  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.056/50$  mg/L, soit :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 1.12 \mu\text{/L}$$

### 2.3 2,3-Dichloronitrobenzène - n° CAS : 3209-22-1

L'OECD, 1996a n'a pas défini de PNEC<sub>aqua</sub>.

On dispose de seulement un résultat d'essai chronique valide obtenu sur *Daphnia magna* avec une NOEC inférieure à 0.06 mg/L. L'absence d'une valeur fixe rend difficile la détermination de la PNEC aquatique, cependant l'ensemble des valeurs obtenues pour les daphnies sur les dichloronitrobenzènes révèle que le passage de l'aigu au trophique s'accompagne d'une forte augmentation de la toxicité. La PNEC aquatique basée sur la NOEC sera donc privilégiée d'autant plus qu'elle est moins élevée que celle calculée à partir de la plus basse L(E)C<sub>50</sub> (facteur d'extrapolation = 1000). La PNEC<sub>aqua</sub> proposée par l'INERIS sera donc déterminée conformément à la Table 16 du TGD (E.C., 2003) en appliquant à la NOEC un facteur d'extrapolation de 100 :  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.06/100$  mg/L, soit :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 0.6 \mu\text{/L}$$

### 2.4 Dichloronitrobenzènes

La PNEC aquatique générale des dichloronitrobenzènes sera représentée par la plus faible des PNEC aquatiques déterminées pour les différents isomères, soit :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 0.5 \mu\text{/L}$$

## 3. BIBLIOGRAPHIE

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC

of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

OECD (1996a). SIDS Initial Assessment Report for Benzene, 1,2-dichloro-3-nitro- (3209-22-1).

OECD (1996b). SIDS Initial Assessment Report for Benzene, 2,4-dichloro-1-nitro- (611-06-3).

OECD (2003). SIDS Initial Assessment Report for SIAM 17 1,2-dichloro-4-nitro- (99-54-7). Italy.



# 1,3-Dichloropropan-2-ol – n°CAS : 96-23-1

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> O
Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	128.99 g/mol (Budavari, 1996)
Densité :	.3506 (Budavari, 1996)
Point de fusion :	- 4 °C (Budavari, 1996)
Point d'ébullition :	174.3 °C (Budavari, 1996)
Pression de vapeur :	99.99 Pa à 20°C (Weber <i>et al.</i> , 1981)
Solubilité dans l'eau :	99000 mg/L à 19°C (Yalkowsky et Dannenfelser, 1992)
Log Kow :	.2* (SRC, 1988) 78* (Meylan et Howard, 1995)
Constante de Henry :	0.06* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (HSDB, 2000) 13* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 20°C (SRC, 1988)
Koc :	957* (PCKOCWIN v.1.66 in US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004) 4* (HSDB, 2000) 8* (Lyman, 1982)

\* valeurs calculées

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le 1,3-Dichloropropan-2-ol peut être considéré comme une substance très soluble et peu volatile. Une étude de la volatilisation de la substance, utilisant une constante de Henry égale à 0.06 Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>, dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de 1/2 vie de 32 jours et de 229 jours respectivement (HSDB, 2000). Par ailleurs, les différentes valeurs estimées du Koc suggèrent une faible adsorption du 1,3-Dichloropropan-2-ol sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau. Ainsi, la réalisation d'essais écotoxicologiques ne demande pas de mesures particulières pour limiter les pertes de la substance par volatilisation et adsorption, celles-ci n'étant probablement pas significatives.

### 1.2 Persistance

Des temps de demi-vie d'hydrolyse ont été estimés à 9.3 jours et 3 jours à pH 7 et 9 respectivement et à une température de 25°C (Ellington *et al.*, 1988). Dans HSDB, 2000 il est rapporté des demi-vies de 1.4 ans à pH 7 et de 34 jours à pH 8 (Ellington, 1989).

Le 1,3-Dichloropropan-2-ol ne subit probablement pas de photolyse direct dans l'eau étant donné sa très faible adsorption dans le spectre solaire (HSDB, 2000).

L'importance de la biodégradation du 1,3-Dichloropropan-2-ol en milieu aquatique est inconnue (HSDB, 2000). D'après l'estimation de l'US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004 (BIOWIN v. 4.02), cette substance ne serait pas facilement biodégradable. Dans Verschueren, 2001 il est rapporté que la biodégradation du 1,3-Dichloropropan-2-ol mène à l'épichlorohydrine et au 2,3-époxypropane.

### 1.3 Bioaccumulation

Un BCF de 3 (Lyman *et al.*, 1990) a été calculé à partir du Log Kow de 0.78 (Meylan et Howard, 1995). SRC, 1988 rapporte également un log BCF = - 0.0265. Le 1,3-Dichloropropan-2-ol ne semble donc pas susceptible de se bioaccumuler.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	E <sub>b</sub> C <sub>50</sub> (48 h)	230	2	Kühn et Pattard, 1990
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	983	2	Kühn <i>et al.</i> , 1989
Poissons	<i>Carassius auratus</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	680	2	Bridié <i>et al.</i> , 1979
Amphibiens	<i>Xenopus laevis</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	450	2	De Zwart et Slooff, 1987

#### Algues

Kühn et Pattard, 1990 ont réalisé un essai statique sur algues vertes selon une méthode normalisée DIN 38 412, Part 9 avec quelques modifications : l'essai a duré 48 heures en système fermé et des récipients d'essai de 250 mL ont été utilisés. L'espèce *Scenedesmus subspicatus*, de souche 86.81 SAG a été utilisée. La densité initiale était de 10<sup>4</sup> cellules/mL, et il a été vérifié que les algues étaient en phase de croissance exponentielle. Le protocole pour la préparation du milieu d'essai est présenté et apparaît satisfaisant. Le pH initial était de 8.1 et la température a été maintenue à 24 ± 1 °C. Une illumination constante de 17 W/m<sup>2</sup> (environ 12000 lux) a été fournie par des tubes fluorescents. Huit concentrations comprises entre 16 et 2000 mg/L ont été testées et des témoins ont été réalisés. La biomasse a été déterminée par mesure de la densité optique, au début du test puis après 24 et 48h. Après 48h, le pH a augmenté de 1.5 unités et la densité moyenne en cellules des témoins était plus de 16 fois supérieure à la densité initiale. Deux paramètres ont été étudiés : le taux de croissance (r) et la biomasse (b). Les EC<sub>50</sub> sont exprimées en fonction des concentrations nominales. La E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> (effet sur la biomasse) et la E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> (effet sur le taux de croissance) à 48h ont été déterminées à 230 mg/L et à 300 mg/L respectivement.

*Le protocole expérimental est bien décrit et conforme à une norme. Mais la durée du test est inférieure aux 72 heures généralement recommandées par la ligne directrice 201 de l'OCDE. D'autres déviations mineures sont à mentionner : sur la luminosité (6400 à 9600 lux recommandés pour la ligne directrice 201 de l'OCDE ou de la norme ISO NF EN 28692), sur la variation de pH au cours de l'essai (1.5 unités au lieu de 1 unité recommandée par l'OCDE). Compte tenu de ces remarques, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

#### Micro-crustacés :

Le test de Kühn *et al.*, 1989, est extrait d'une étude chronique (cf. partie 2.2) réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée. Ce test de 24 h a été réalisé sur des daphnies âgées de 24h et dans des conditions statiques (eau reconstituée initialement saturée en O<sub>2</sub> dissous, 25

$\pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 8 \pm 0.2$ , dureté de l'eau = 2.5 mmol  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ). Le critère d'effet mesuré était l'immobilité. La gamme des concentrations testées allait de 8 à 1000 mg/L. 20 daphnies, réparties en 4 groupes de 5 individus dans 250 mL de milieu, ont été utilisées pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle. La  $\text{EC}_{50}$  (24 h) = 983 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*L'essai est bien renseigné. Il est considéré comme valide sous certaines restrictions : la courte durée de l'essai (48 h normalement), la température du milieu d'essai relativement élevée (un maximum de  $22^\circ\text{C}$  est recommandé), la gamme des concentrations testées (la concentration la plus élevée doit de préférence provoquer 100% d'immobilisation) et l'absence d'information sur les groupes témoins à la fin de l'essai.*

#### Poissons :

L'essai de Bridié *et al.*, 1979 sur *Carassius auratus* ( $6.2 \pm 0.7$  cm ;  $3.3 \pm 1$  g) a été réalisé dans des conditions statiques (aération du milieu, température :  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} : 7.8$ ) suivant les lignes directrices de l'APHA<sup>39</sup> (1971). La qualité du milieu d'essai est présentée. Des groupes de 10 poissons ont été exposés à une série de concentrations d'essai dans 25 L de milieu. Les concentrations ont été mesurées au début et à la fin de l'essai. La perte de la substance par évaporation a été estimée inférieure à 10%. La  $\text{LC}_{50}$  sur 24 heures a été déterminée égale à 680 mg/L.

*L'essai est moyennement documenté : aucune information n'est fournie sur la mortalité obtenue dans les groupes témoins, l'existence de réplicats, la valeur et le nombre de concentrations testées et les soins administrés aux poissons (lumière, alimentation, période d'acclimatation). Un suivi analytique des concentrations d'essai a été réalisé et il n'y a pas eu de pertes significatives de la substance. Par ailleurs, certains paramètres ne sont pas conformes à ceux préconisés par la ligne directrice 203 de l'OCDE : la durée de l'essai (devrait être de 96 heures) et la charge (1.32 g/L) qui dépasse légèrement celle recommandée pour les essais statiques (1g/L). Sous ces restrictions, l'essai est jugé valide.*

#### Amphibiens :

L'essai de De Zwart et Slooff, 1987 a été conduit sur *Xenopus laevis* (individus âgés de 3-4 semaines) à  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , en système statique et fermé. Les concentrations n'ont pas été suivies au cours du test. 10 organismes ont été utilisés par concentration d'essai (5 concentrations espacées d'un facteur 1.5) dans 1 L de milieu. Aucun réplicat n'a été réalisé. L'eau de dilution employée était conforme aux normes hollandaises ( $\text{pH}$  entre 8 et 8.4, dureté = 200 mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ , Canton et Slooff, 1982). La  $\text{LC}_{50}$  sur 48 heures a été déterminée égale à 450 mg/L.

*Un certain nombre d'informations sont manquantes. sur les soins apportés aux organismes (alimentation, lumière...), la concentration en oxygène dissous dans le milieu et les valeurs des concentrations testées. Par ailleurs il n'y a pas eu de réplicats et il n'est pas mentionné si des groupes témoins ont été réalisés. L'essai est donc considéré comme valide avec restrictions.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	$\text{E}_b\text{C}_{10}$ (48 h)	55	2	Kühn et Pattard, 1990
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21 j.)	10.4	2	Kühn <i>et al.</i> , 1989

<sup>39</sup> APHA (1971). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association Inc., New York. Method N° 231.

### Algues :

Le test de Kühn et Pattard, 1990 est bien renseigné et applique la norme allemande DIN 38 412, Part 9 avec quelques modifications (cf. partie 2.1). La gamme des concentrations testées allait de 16 à 2000 mg/L. Deux paramètres ont été étudiés : le taux de croissance ( $r$ ) et la biomasse, ( $b$ ). Les  $EC_{10}$  sont exprimées en fonction des concentrations nominales. La  $E_bC_{10}$  (effet sur la biomasse) et la  $E_rC_{10}$  (effet sur le taux de croissance) à 48 h ont été déterminées à 55 mg/L et à 100 mg/L respectivement.

*Les résultats obtenus sont considérés comme valides avec restrictions (cf. partie 2.1).*

### Micro-crustacés :

Le test de Kühn *et al.*, 1989, est extrait d'une étude réalisée sur 73 substances selon une procédure normalisée. Ce test semi-statique est bien renseigné (eau reconstituée initialement saturée en  $O_2$  dissous,  $25 \pm 1^\circ C$ ,  $pH = 8 \pm 0.2$ , dureté de l'eau = 2.5 mmol  $CaCO_3/L$ ). 9 heures de lumière par jour a été fournie par des lampes fluorescentes (25/40 W). Le milieu était renouvelé trois fois par semaine. Le pH et l' $O_2$  dissous ont été contrôlés régulièrement et les daphnies étaient alimentées quotidiennement. Trois paramètres ont été mesurés : le taux de reproduction, la mortalité des animaux parents et le temps d'apparition de la progéniture. La gamme des concentrations testées allait de 8 à 1000 mg/L et 20 daphnies (âgées de 24 h) ont été utilisées par concentration d'essai. Chaque concentration d'essai a été testée en 4 exemplaires (5 individus dans 250 mL de solution) et des contrôles ont été réalisés en 4 réplicats au minimum. Un suivi analytique des concentrations d'essai révèle une perte de la substance supérieure à 20 % et la NOEC a donc été déterminée à partir des concentrations mesurées. La NOEC (21 j.) = 10.4 mg/L a été calculée pour le paramètre mesuré le plus sensible qui était le taux de reproduction.

*Le protocole expérimental est bien détaillé et semble globalement satisfaisant mis à part l'absence d'informations sur les groupes témoins à la fin de l'essai. Il y a des déviations par rapport au protocole recommandé par la ligne directrice 211 de l'OCDE qui préconise une température du milieu d'essai comprise entre 18 et 22°C, une photopériode de 16 heures et de tester les animaux individuellement en système semi-statique. Sous ces restrictions, l'essai est considéré valide.*

## **3. DETERMINATION DE LA $PNEC_{AQUA}$**

On dispose de résultats d'essais chroniques valides pour deux niveaux trophiques différents (algues et invertébrés).

Le plus bas résultat d'essai aigu a été déterminé pour *Scenedesmus subspicatus* et la plus basse NOEC a été obtenue sur *Daphnia magna*. La  $LC_{50}$  pour les poissons a été déterminée sur 24 heures mais cette valeur aurait été probablement sensiblement plus faible sur 96 heures. Mais on dispose par ailleurs d'une donnée sur un autre vertébré (amphibien).

En considérant que les algues puissent être considérées comme le niveau trophique le plus sensible, un facteur d'extrapolation de 50 est appliqué à la NOEC validée la plus faible (NOEC sur 21 jours égale à 10.4 mg/L pour *Daphnia magna*) pour dériver la  $PNEC_{aqua}$  :  $PNEC_{aqua} = 10.4/50$  mg/L, soit :

$$PNEC_{aqua} = 208 \mu g/L$$

## 4. BIBLIOGRAPHIE

Bridié, A. L., C. J. M. Wolff and M. Winter (1979). "The acute toxicity of some petrochemicals to goldfish." Water Research 13(7): 623-626.

Budavari, S. (1996). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. Whitehouse station, NJ.

Canton, H. and W. Slooff (1982). "Toxicity and accumulation studies of cadmium (Cd<sup>2+</sup>) with freshwater organisms of different trophic levels." Ecotoxicology and Environmental Safety 6: 113-128.

De Zwart, D. and W. Slooff (1987). "Toxicity of mixtures of heavy metals and petrochemicals to *Xenopus laevis*." Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 38: 345-351.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

Ellington, J. J. (1989). Hydrolysis Rate Constants for Enhancing Property Reactivity Relationships. Athens, GA, Environ Res Lab.

Ellington, J. J., F. E. Stancil, W. D. Payne and C. D. Trusty (1988). Measurement of hydrolysis rate constants for evaluation of hazardous waste land disposal: volume 3. Data on 70 chemicals., U.S. EPA.

HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.

Kühn, R. and M. Pattard (1990). "Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test." Wat. Res. 24(1): 31-38.

Kühn, R., M. Pattard, K.-D. Pernak and A. Winter (1989). "Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test (OECDG Data File)." Wat. Res. 23(4): 501-510.

Lyman, W. J. (1982). Adsorption coefficient for soils and sediments. Handbook of Chemical Property Estimation Methods. New York.

Lyman, W. J., W. F. Reehl and D. H. Rosenblatt (1990). Handbook of chemical property estimation methods. Washington DC., American Chemical Society.

Meylan, W. M. and P. H. Howard (1995). J Pharm Sci 84: 83-92.

SRC (1988). Syracuse Research Corporation calculated values.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,.

Verschuere, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.

Weber, R. C., P. A. Parker and M. Bowser (1981). Vapor pressure distribution of selected organic chemicals. Cincinnati, OH, U.S.EPA.: 39.

Yalkowsky, S. H. and R. M. Dannenfelser (1992). The Aquasol Database of Aqueous Solubility, College of Pharmacy, University of Arizona-Tucson, AZ.



# 2,3-dichloropropène- n° CAS 78-88-6

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Etat physique :	liquide jaune pâle
Poids moléculaire :	110.97 g/mol Verschueren, 2001
Point de fusion :	10 °C Lide, 2000
Point d'ébullition :	94 °C Verschueren, 2001
Pression de vapeur :	8160 Pa Daubert and Danner, 1989
Solubilité :	917.8 mg/L Mackay and Shiu, 1981
Log Kow :	2.42 (calculé avec KOWWIN v1.67)
Constante de Henry :	285.7 Pa.m <sup>3</sup> /mol (Albanese et al, 1987)

La valeur de la solubilité du 2,3-dichloropropène (2150 mg/L) est citée dans HSDB et Verschueren 2001, ceux-ci référant Mackay et Shiu (1981). Après consultation de cette publication, il s'est avéré que la valeur de 2150 mg/L était celle de la solubilité du 2,3-dichloropropane. La solubilité estimée par WSKOW v1.41 est de 917.8 mg/L. Ne disposant d'aucune autre source, on considérera donc la valeur calculée de 917.8 mg/L pour la solubilité du 2,3-dichloropropène.

Compte tenu de sa solubilité, de sa pression de vapeur et de sa constante de Henry, le 2,3-dichloropropène est considéré comme très soluble et très volatil. Syracuse Research Corporation (SRC) fait état d'études de volatilisation qui estiment des ½ vies de volatilisation de 3h pour un modèle de rivière et de 5 jours pour un modèle de lac (cité dans HSDB).

Il est donc important de vérifier si des précautions particulières ont été prises pour limiter la volatilisation de cette substance lors des essais d'écotoxicité (essai en système clos, renouvellement continu du milieu,...).

### 1.2 Persistance

Dans HSDB, il est précisé que le 2,3-dichloropropène n'est pas susceptible de se dégrader dans l'eau.

Le 2,3-dichloropropène est hydrolysé en 2-chloro-3-hydroxy-1-propène avec une demi-vie de 27 jours à 29°C (Krijghsheld et Van der Gen, 1982) et de 22 jours à 25°C (Milano et al., 1988).

Par ailleurs, une estimation du  $K_{oc}=67$  réalisée à partir de la solubilité du 2,3-dichloropropène (SRC) indique que celui-ci n'a pas tendance à s'adsorber sur les matières en suspension ou les sédiments.

Il n'y a pas de donnée quantitative sur une éventuelle photolyse dans l'eau.

### 1.3 Bioaccumulation

Un BCF de l'ordre de 8 (SRC) calculé à partir de la solubilité est cité dans HSDB. Par ailleurs, un BCF de 14.7 a été estimé à partir du log Kow (2.42) à l'aide du programme BCFWIN v2.15 (EPIWIN). Ces résultats suggèrent que la bioconcentration du 2,3-dichloropropène chez les organismes aquatiques est faible.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Micro-organismes</b>	<i>Tetrahymena thermophila</i>	EC50 (48h) Inhibition de la croissance	119	2	Pauli <i>et al.</i> , 1993
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Daphnia magna</i>	EC50 (24 h)	20	4	Trenel and Kühn, 1982
	<i>Daphnia magna</i>	EC50 (24 h)	1		
<b>Poissons</b>	<i>Poecilia reticulata</i>	LC50(14 j)	1.1	2	Hermens <i>et al.</i> , 1985

#### Micro-organismes :

Pauli et Berger, 1993 ont testé la toxicité du 2,3-dichloropropène sur la croissance du protozoaire *Tetrahymena thermophila* (souche B III). Le test a été mené en tubes à essais fermés contenant initialement 2 mL de milieu et 10 000 cellules/mL de *Tetrahymena thermophila*. Le milieu d'essais est celui défini par Rasmussen *et al.* (1973), la température étant maintenue à 32 °C. L'essai est réalisé en duplicat, avec au minimum 5 concentrations testées (série géométrique de raison 1.5-2). L'évolution de la croissance est suivie par mesure de densité optique sur 48h. La courbe dose-réponse obtenue permet de calculer une EC50 de 119 mg/L.

*Cette valeur n'est donnée qu'à titre indicatif et ne sera pas utilisée pour la dérivation de la PNECaqua.*

#### Micro-crustacés :

L'essai de Trenel & Kühn (1982) sur *Daphnia magna* a été réalisé dans des conditions statiques.

*Il n'a pas été possible de juger de la validité de cet essai compte tenu de l'indisponibilité du rapport.*

#### Poissons :

L'essai de Hermens *et al.* (1985) sur *Poecilia reticulata* a été réalisé selon la méthode utilisée par Könemann (1981), c'est-à-dire en conditions fermées et semi-statiques : le milieu d'essai (dureté de l'eau : 25 mg/L CaCO<sub>3</sub> ; température : 22°C ; O<sub>2</sub> dissous >5 mg/L) était renouvelé quotidiennement. Au total, 8 individus ont été testés par concentration. Les concentrations d'essai appartenaient à une série géométrique d'un facteur de 3.2 alors que l'OCDE recommande de ne pas dépasser un facteur de 2.2. Un agent solubilisant (acétone ou 2-propanol) a été utilisé. Il n'y a pas eu de suivi analytique des concentrations d'essai. Une LC<sub>50</sub> (14 j) de 1.1 mg/L a été déterminée.

*Des mesures de limitation de la volatilisation de la substance ont été prises (renouvellement des milieux et système clos). Il n'est pas précisé si des témoins ont été réalisés pour le solvant. Compte-tenu de l'absence de suivi analytique, cet essai est considéré valide avec restrictions.*

### 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Micro-organismes</b>	<i>Tetrahymena thermophila</i>	NOEC (48h)	40	2	Pauli <i>et al.</i> , 1993
<b>Algues</b>	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC03 (7 j)	20	4	Trenel and Kühn, 1982

#### Micro-organismes :

L'essai est commenté plus haut.

*Cette valeur n'est donnée qu'à titre indicatif et ne sera pas utilisée pour la dérivation de la PNECaqua.*

#### Algues :

Trenel and Kühn, 1982 : l'essai a été conduit en conditions statiques.

*Ce rapport n'a pas pu être obtenu. La durée de l'essai apparaît cependant trop longue : il n'est pas assuré que les algues se trouvaient encore en condition de croissance exponentielle. Compte tenu de l'indisponibilité du rapport, il n'a pas été possible de juger de la validité de cet essai.*

### **3. DETERMINATION DE LA PNECAQUA**

On ne dispose pour cette substance que d'une seule donnée valide (toxicité aiguë sur poissons). Ceci est insuffisant pour pouvoir dériver une PNEC.

### **4. BIBLIOGRAPHIE**

Daubert, T. E. and R. P. Danner (1989). Physical and thermodynamic properties of pure chemicals data compilation. Washington, D.C., Taylor and Francis.

Hermens, J., P. Leeuwangh and A. Musch (1985). "Joint toxicity of mixtures of groups of organic aquatic pollutants to the guppy (*Poecilia reticulata*)." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 9: 321–326.

Lide, D. R. (2000). CRC-Handbook of Chemistry and Physics, CRC-Press LLC, Boca Raton.

Mackay, D. and W. J. Shiu (1981). "A critical review of Henry's law constants for chemicals of environmental interest." *J. Phys. Chem. Ref. Data* 10: 1175-99.

Pauli, W., S. Berger, L. Jaskulka and S. Schmitz (1993). "A case for the inclusion of e protozoan test in aquatic toxicity assessment using *Tetrahymena*." *Sci. Total Environ. (Suppl.)*: 779-786.

Trenel, J. and R. Kühn (1982). "Bewertung Wassergefährdender Stoffe im Hinblick auf Lagerung, Umschlag und Transport." *Inst. Wasser- Boden- Lufthyg. Bundesgesundheitsamt*: 12-14, 25-27, Anlage 2 (23-28), Anlage 4 (1-5).

Verschuere, K. (2001). *Handbook of Environmental Data of Organic Chemicals*. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.



# Diéthylamine– n°CAS : 109-89-7

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> N
Etat physique :	liquide incolore
Poids moléculaire :	73.14 g/mol (Budavari, 1996)
Densité :	0.071 à 20 °C (Budavari, 1996)
Point de fusion :	-48 à -50 °C (Verschuieren, 2001) -50 °C (Budavari, 1996)
Point d'ébullition :	55.5 °C (Budavari, 1996) 57 °C (Verschuieren, 2001)
Pression de vapeur :	26664.5 Pa à 20°C (Verschuieren, 2001) 31597.4 Pa à 25 °C (Yaws, 1994)
Solubilité dans l'eau :	815 g/L à 14 °C (Verschuieren, 2001) 1×10 <sup>6</sup> mg/L à 25 °C (Riddick <i>et al.</i> , 1985)
Log Kow :	0.43 à 0.57 (Verschuieren, 2001) 0.58 (Hansch <i>et al.</i> , 1995)
Constante de Henry :	2.58 Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25 °C (HSDB, 2000) 2.37 à 2.596* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (Hine and Mookerjee, 1975)
Koc :	50* (HSDB, 2000)

\* valeurs estimées

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le diéthylamine peut être considéré comme une substance très soluble et assez volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière indique un temps de ½ vie de 31.6 heures (Lyman *et al.*, 1982).

### 1.2 Persistance

Aucune donnée sur l'hydrolyse du diéthylamine en milieu aquatique n'a été trouvée dans la littérature.

Le diéthylamine ne subit probablement pas de photolyse directe dans l'eau étant donné sa très faible absorption dans le spectre solaire (HSDB, 2000).

La biodégradation du diéthylamine est significative : une dégradation totale de la substance a été observée après 14 jours d'incubation (HSDB, 2000 ; Verschuieren, 2001). Une demi-vie de 0.9 jour a été estimée dans de l'eau de rivière pour 10 mg/L de diéthylamine (HSDB, 2000).

### 1.3 Bioaccumulation

Lyman *et al.*, 1982 ont calculé un log BCF = 0.21 correspondant à un BCF de 1.62 environ. Ces valeurs suggèrent un faible potentiel de bioconcentration du diéthylamine chez les organismes aquatiques.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>03</sub> (7 j.)	2.5	3	Trenel and Kühn, 1982
	<i>Scenedesmus sp.</i>	EC <sub>0</sub> (96 h)	< 4	4	McKee and Wolf, 1963
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	TGK (96 h)	4	4	Bringmann and Kühn, 1959
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	20	1	Calamari <i>et al.</i> , 1980
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	56	2	Van Leeuwen <i>et al.</i> , 1985
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	41	2	IRCHA, 1981
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	56 (32 – 100)	2	Van Leeuwen <i>et al.</i> , 1985
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	77	4	Trenel and Kühn, 1982
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	100	4	Bringmann and Kühn, 1959
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	164 (161 – 168)	2	Calamari <i>et al.</i> , 1980
Poissons	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	25	3	Calamari <i>et al.</i> , 1980
	<i>Semotilus atromaculatus</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	70 < LC <sub>50</sub> < 100	4	Gillette <i>et al.</i> , 1952
	<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	130	2	Van Leeuwen <i>et al.</i> , 1985
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	182	2	Calamari <i>et al.</i> , 1980
	<i>Pimephales promelas</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	855	2	Brooke <i>et al.</i> , 1984
	<i>Oryzias latipes</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1000	3	Tonogai <i>et al.</i> , 1982

#### Algues :

IUCLID, 2000 cite un essai de Bringmann and Kühn, 1959 et un autre de McKee and Wolf, 1963 qui ont été réalisés sur *Scenedesmus quadricauda* et *Scenedesmus sp* respectivement. Un TGK<sup>40</sup> (96 h) = 4 mg/L déterminé par Bringmann and Kühn, 1959 a été retrouvée dans la publication (en allemand) mais les détails du protocole expérimental n'ont pas été vérifiés. La publication de McKee and Wolf, 1963 n'a pas pu être consulté dans la publication originale.

*Les informations sont donc insuffisantes pour pouvoir juger de la validité de ces essais.*

<sup>40</sup> Toxische Grenzkonzentration: concentration induisant 3 à 5 % d'effet. Peut être assimilée à une NOEC.

Calamari *et al.*, 1980 ont testé la toxicité du diéthylamine sur *Selenastrum capricornutum*. Ils ont suivi une méthode standard de l'EPA<sup>41</sup> (1971). Les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations nominales mais un suivi analytique des concentrations a été réalisé et indique que celles-ci n'ont pas différé de plus de 10 % de leur valeur nominale. Le critère d'effet mesuré sur 96 heures est l'inhibition de la croissance algale. La densité algale a été déterminée par mesure fluorométrique de la chlorophylle à 48, 72, 96 heures et 7 jours. Il a été vérifié que les algues étaient en croissance exponentielle. Sept concentrations (1, 2, 5, 10, 20, 40 et 80 mg/L) et un groupe témoin ont été testés. La EC<sub>50</sub> sur 96 h a été déterminée égale à 20 mg/L.

*Une méthode normalisée a été suivie et les algues étaient en phase de croissance exponentielle. Ce résultat est considéré comme valide.*

L'essai de Trenel and Kühn, 1982 sur *Scenedesmus subspicatus* donne une EC<sub>03</sub> = 2.5 mg/L. La durée d'exposition est de 7 jours et l'effet mesuré est l'histologie algale.

*La durée de l'essai apparaît trop longue : il n'est pas assuré que les algues se trouvaient encore en condition de croissance exponentielle et les effets histologiques ne sont généralement pas considérés comme pertinents pour évaluer les effets écotoxicologiques. Il ne sera pas tenu compte de ce résultat.*

Van Leeuwen *et al.*, 1985 a réalisé un essai de toxicité aiguë sur *Chlorella pyrenoidosa* suivant la Ligne directrice 201 de l'OCDE. La pureté de la substance est  $\geq 99$  %. La concentration cellulaire initiale dans la solution d'essai est de 10<sup>8</sup> cellules/L. La température du milieu est de 20  $\pm$  1°C. Les essais ont été réalisés en triplicat dans des erlenmeyers fermés de 200 mL (avec 100 mL de solution d'essai) et sous un éclairage de 7.5 W.m<sup>-2</sup> (environ 5000 lux). La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen and Maas, 1985. Le critère d'effet est le taux de croissance comme le définit la ligne directrice 201 de l'OCDE. Une EC<sub>50</sub> (96 h) a été déterminée égale à 56 mg/L.

*Les valeurs des concentrations d'essai utilisées, le pH et la concentration cellulaire dans les cultures témoins à la fin du test ne sont pas indiquées. Cependant, l'essai a été réalisé suivant la Ligne directrice 201 de l'OCDE. Par conséquent, il est considéré valide avec restrictions.*

#### Micro-crustacés :

IUCLID, 2000 cite des données issues de Bringmann and Kühn, 1959 et de l'IRCHA, 1981.

*Les détails du protocole expérimental n'ont pas pu être vérifiés dans la publication originale pour la EC<sub>50</sub> (48 h) = 100 mg/L déterminée par Bringmann and Kühn, 1959. Le résultat de l'IRCHA, 1981 a été obtenu à partir d'un norme AFNOR mais le rapport complet n'a pas pu être consulté, ce résultat est donc considéré comme valide avec restriction.*

Deux EC<sub>50</sub> 24h (77 et 288 mg/L) provenant de Trenel and Kühn, 1982 sur *Daphnia magna* sont citées dans la base de données AQUIRE,

*Il n'a pas été possible de vérifier les détails du protocole expérimental dans la publication originale. Il n'est donc pas possible de juger de la validité de l'essai.*

Van Leeuwen *et al.*, 1985 ont réalisé un essai semi-statique sur *Daphnia magna* (< 24 h) en système fermé avec une substance de pureté  $\geq 99$  %. L'essai a été réalisé suivant la ligne directrice 202 de l'OCDE, avec quelques modifications : un renouvellement journalier des

---

<sup>41</sup> EPA (1971). *Algal Assay Procedure Bottle Test*. National Eutrophication Research Program, U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, Oreg.

solutions d'essai a été effectué et les daphnies ont été nourries avec  $10^8$  cellules/L de *Chlorella pyrenoidosa*. La  $LC_{50}$  (48 h) a été déterminée à 56 (32 – 100) mg/L.

*L'utilisation d'un système fermé a permis de limiter les éventuelles pertes de substance par volatilisation. La ligne directrice 202 de l'OCDE a été suivie, mais la mortalité dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas indiquées. De plus, les daphnies ne devraient pas être nourries pendant l'essai. Compte-tenu de ces remarques et de la forte amplitude de l'intervalle de confiance, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

Calamari *et al.*, 1980 ont testé, à court terme, la toxicité du diéthylamine sur *Daphnia magna*. L'essai a été réalisé suivant la méthode standard AFNOR<sup>42</sup> (1974). L'effet étudié sur 24 heures était l'inhibition de la mobilité. Une dureté de l'eau de 320 mg  $CaCO_3$ /L a été appliquée. Les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations nominales mais un suivi analytique des concentrations a été réalisé et indique que celles-ci n'ont pas différé de plus de 10 % de leur valeur nominale. La  $EC_{50}$  sur 24 h a été déterminée égale à 164 (161 – 168) mg/L.

*L'essai suit une norme. Mais la ligne directrice 202 de l'OCDE, plus récente, recommande une dureté de l'eau comprise entre 140 et 250 mg  $CaCO_3$ /L et une durée d'exposition de 48 h. L'essai est considéré valide sous restrictions.*

#### Poissons :

Brooke *et al.*, 1984 rapportent un essai aigu réalisé sur *Pimephales promelas* en flux continu. Cet essai a été mené en 1983 au sein de l'U.S. Environmental Protection Agency Laboratory-Duluth. Les conditions d'élevage et le protocole expérimental sont bien renseignés. Le degré de pureté de la substance est de l'ordre de 98%. Les poissons sont nés directement au laboratoire et ont été élevés à 25°C, en flux continu. Une photopériode de 16 heures a été appliquée. Les poissons ont été alimentés au plus 3 fois par jours, jusqu'à 24 heures avant le début de l'essai. Un suivi analytique des concentrations d'essai et des paramètres physico-chimiques de l'eau a été réalisé. Les résultats expérimentaux bruts sont fournis. La température est de  $24.7 \pm 1.07^\circ C$ , la dureté de l'eau de 48.5 mg  $CaCO_3$ /L, l'alcalinité de 49.5 mg  $CaCO_3$ /L, le pH de  $7.71 \pm 0.09$  et la concentration en  $O_2$  dissous de  $7.1 \pm 0.5$  mg/L. Cinq concentrations et un contrôle ont été testés sans réplicat. 20 individus âgés de 30 jours (22.1 mm de long, 0.152 g) ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle, dans 2.2 L de milieu. La charge est de 1.382 g/L. Au bout de 96 heures d'exposition, aucune mortalité n'a été enregistrée dans le groupe témoin. Une  $LC_{50}$  (96 h) = 855 mg/L a été déterminée à partir des concentrations mesurées.

*L'essai est bien renseigné et les informations fournies apparaissent satisfaisantes. La charge en poisson et la température dépassent très légèrement celles recommandées par la Ligne directrice 203 de l'OCDE (elle recommande une température comprise entre 21 – 25°C et une charge maximale de 1 g/L pour les essais semi-statiques). Par ailleurs, il n'y pas eu de réplicats des concentrations d'essai. Sous ces restrictions, l'essai est considéré comme valide.*

Calamari *et al.*, 1980 ont testé à court terme la toxicité du diéthylamine sur *Oncorhynchus mykiss*. L'essai a été réalisé suivant une méthode standard IRSA<sup>43</sup> (1973). Les caractéristiques du milieu sont : dureté de 320 mg  $CaCO_3$ /L, pH de 7.4, teneur en oxygène > 95% de la saturation, température de 15 °C. Les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations

---

<sup>42</sup> AFNOR (1974). Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Strauss (crustacés cladocères). Norme Expérimentale N.F.T 90-301, 1974.

<sup>43</sup> IRSA (1973). Metodi analitici per le acque, III. *Quaderni dell'Istituto di Ricerca sulle Acque* 11, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma.

nominales mais un suivi analytique des concentrations a été réalisé et indique que celles-ci n'ont pas différé de plus de 10 % de leur valeur nominale. Une  $LC_{50}$  (96 h) = 182 (167 – 198) mg/L a été déterminée.

Un essai dans de l'eau à 20 mg  $CaCO_3$ /L de dureté a également été réalisé mais aucun traitement statistique des résultats n'a été effectué. Il est rapporté une  $LC_{50}$  (96 h) = 25 mg/L mais il est d'ailleurs précisé dans la publication originale que cette valeur n'est donnée qu'à titre indicatif.

*L'essai est moyennement documenté mais une méthode standard a été suivie. L'absence de traitements statistiques des résultats obtenus dans une eau à 20 mg  $CaCO_3$ /L de dureté, ne permet pas de valider la  $LC_{50}$  (96 h) = 25 mg/L. Par contre, le résultat obtenu en eau dure (320 mg  $CaCO_3$ /L) est considéré valide avec restrictions compte-tenu de la forte dureté de l'eau (la ligne directrice 203 de l'OCDE recommande une dureté de l'eau comprise entre 10 et 250 mg/L de  $CaCO_3$ ) et de l'ancienneté de la méthode suivie.*

L'essai de Gillette *et al.*, 1952 n'a pu être consulté dans la publication originale.

*Par conséquent, il n'a pas été possible de juger de la validité de l'essai.*

Tonogai *et al* (1982) ont réalisé un essai statique de toxicité aiguë sur *Oryzias latipes*. Dix organismes de même âge (une masse unitaire de 0.2 g et 2 cm de longueur) préalablement acclimatés pendant 10 jours à l'eau du robinet, sont placés dans 2 litres d'eau déminéralisée à 25°C. La concentration en oxygène dissous est surveillée au cours du test. L'essai a été mené conformément à la procédure recommandée par le Japanese Industrial Standards Committee (1971). Aucune précaution n'a été prise pour limiter la volatilisation de la substance. Par ailleurs, la  $LC_{50}$  (24 h et 48 h) de 1000 mg/L est basée sur les concentrations nominales.

Aucune information concernant le nombre de réplicat, le suivi du pH ou encore les effets observés dans les lots témoins, n'est précisée.

*L'essai est très peu détaillé. Le protocole de l'essai diffère de celui recommandé par l'OCDE, notamment sur la durée du test (96h minimum sont recommandées par l'OCDE 203 pour les tests aigus sur poissons). La  $LC_{50}$  sur *Oryzias latipes* apparaît bien supérieure aux autres données d'écotoxicité sur poisson. Compte tenu de la nature volatile du diéthylamine, des précautions pour limiter sa volatilisation auraient été souhaitables. Du fait de l'absence de suivi analytique dans cet essai statique et du manque de précaution, le résultat est jugé invalide.*

Van Leeuwen *et al.*, 1985 ont réalisé un essai semi-statique (renouvellement journalier) sur *Poecilia reticulata* selon la ligne directrice 203 de l'OCDE. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen and Maas, 1985. L'essai a été conduit en récipients fermés. La pureté de la substance testée est  $\geq 99$  %. La  $LC_{50}$  (96 h) a été déterminée à 130 (100 – 180) mg/L.

*L'utilisation d'un système fermé a permis de limiter les éventuelles pertes de substance par volatilisation. La ligne directrice 203 de l'OCDE a été suivie. Mais la mortalité obtenue dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas précisées. L'essai est donc considéré valide avec restrictions.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Selenastrum capricornutum</i>	NOEC (96 h)	2	1	Calamari <i>et al.</i> , 1980

#### Algues :

Calamari *et al.*, 1980 ont mené un essai sur *Selenastrum capricornutum* présenté en partie 2.1. La plus forte concentration ne provoquant aucun effet significatif sur la croissance algale a été déterminée à 2 mg/L.

*L'essai a été réalisé suivant une méthode standardisée EPA (1971). Il est considéré comme valide.*

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

Seul un résultat d'essai chronique valide a été trouvé dans la littérature : NOEC (96 h) = 2 mg/L pour *Selenastrum capricornutum* (Calamari *et al.*, 1980). Le plus bas résultat d'écotoxicité aiguë (EC<sub>50</sub> = 20 mg/L) a été déterminé pour cette même espèce (Calamari *et al.*, 1980). Ainsi, les algues appartiennent au niveau trophique le plus sensible. Cependant, conformément à la table 16 du TGD (E.C., 2003), la NOEC sur les algues ne peut être utilisée pour dériver la PNEC aquatique. Par conséquent, la PNEC<sub>aqua</sub> sera déterminée en appliquant à la plus faible EC<sub>50</sub> un facteur d'extrapolation de 1000 : PNEC<sub>aqua</sub> = 20/1000 mg/L, soit :

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 20 \mu\text{g/L}$$

### 4. BIBLIOGRAPHIE

AQUIRE AQUatic toxicity Information RETrieval, US-EPA, Mid-Continent Ecology Division, Duluth, MN.

Bringmann, G., R. Kühn (1959). "Vergleichende wasser-toxikologische Untersuchungen an Bakterien, Algen und Kleinkrebsen." *Gesundheit-Ingenieur*. 80: 115-120.

Brooke, L. T., D. J. Call, D. L. Geiger, C. E. Northcott (1984). Acute toxicities of organic chemicals to Fathead minnow (*Pimephales promelas*). Vol. I. University of Wisconsin, Superior.

Budavari, S. (1996). The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. Whitehouse station, NJ.

Calamari, D., R. Da Gasso, S. Galassi, A. Provini, M. Vighi (1980). "Biodegradation and Toxicity of Selected Amines on Aquatic Organisms." *Chemosphere* 9(12): 753-762.

Gillette, L. A., D. L. Miller, H. E. Redman (1952). "Appraisal of a Chemical Waste Problem by Fish Toxicity Tests." *Sewage Ind.Wastes* 24: 1397-1401.

Hansch, C., A. Leo, D. Hoekman (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. American Chemical Society.

Hine, J., P. K. Mookerjee (1975). "The intrinsic hydrophilic character of organic compounds in terms of structural contributions." *J. Org. Chem.* 40(3): 292-298.

HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.

IRCHA (1981). Les produits chimiques dans l'Environnement. Institut National de Recherche Chimique Appliquée. Ministère de l'Environnement et du Cadre de Vie. Direction de la Prévention des Pollutions.

IUCLID (2000). International Uniform Chemical Information Database.

- Lyman, W. J., W. F. Reehl, D. H. Rosenblatt (1982). Handbook of Chemical Property Estimation Methods; Environmental Behavior of Organic Compounds. New York, McGraw-Hill,.
- McKee, J. E., H. W. Wolf (1963). Water Quality Criteria, zit.nach OHMTADS.
- Riddick, J. A., W. B. Bunger, T. K. Sakano (1985). Techniques of chemistry - Organic solvents. New York, NY.
- Tonogai, Y., S. Ogawa, Y. Ito, M. Iwaida (1982). "Actual Survey on TLM (Median Tolerance Limit) Values of Environmental Pollutants, Especially on Amines, Nitriles, Aromatic Nitrogen Compounds." J.Toxicol.Sci. 7(3): 193-203.
- Trenel, J., R. Kühn (1982). "Bewertung Wassergefährdender Stoffe im Hinblick auf Lagerung, Umschlag und Transport." Inst. Wasser- Boden- Lufthyg. Bundesgesundheitsamt: 12-14, 25-27, Anlage 2 (23-28), Anlage 4 (1-5).
- Van Leeuwen, C. J., H. Maas (1985). "The aquatic toxicity of 2,6-dichlorobenzamide (BAM), a degradation product of the herbicide dichlobenil." Environ. Pollut. Ser. A. 37: 105-115.
- Van Leeuwen, C. J., J. L. Maas-Diepeveen, G. Niebeek, W. H. A. Vergouw, P. S. Griffioen, M. W. Luyken (1985). "Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds. Short-term tests." Aquat. Toxicol. 7: 145-164.
- Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.
- Yaws, C. L. (1994). In : Handbook of Vapor Pressure. Volume 1 - C1 to C4 Compounds. Houston, TX, Gulf Publishing Co.



# Diméthylamine– n°CAS : 124-40-3

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N
Etat physique :	gaz incolore
Poids moléculaire :	45.08 g/mol (Lide 1998-1999)
Densité :	0.68 g/cm <sup>3</sup> à 0/4 °C (Lide 1998-1999)
Point de fusion :	-92.2 °C (Dean 1985)
Point d'ébullition :	6.89 °C (Boublik et al. 1984)
Pression de vapeur :	172252.5 Pa à 20 °C (Verschueren 2001) 202650 Pa à 25 °C (Daubert et Danner 1989)
Solubilité dans l'eau :	620000 mg/L à 25 °C (Yaws et al. 1990) miscible (Verschueren 2001) Très soluble (Lide 1998-1999)
Log Kow :	-0.38 (Hansch et al. 1995)
Constante de Henry :	1.793 Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25 °C (Christie et Crisp 1967)
Koc :	435 (Rao et Davidson 1982) 508 (HSDB 2000)

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le diméthylamine peut être considéré comme une substance très soluble et modérément volatile. Une étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière indique un temps de ½ vie de 35.1 heures dans l'eau (Lyman et al. 1982). Par ailleurs, les valeurs de Koc suggèrent une adsorption modérée du diméthylamine sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau.

### 1.2 Persistance

Aucune donnée sur l'hydrolyse du diméthylamine dans l'eau n'a été trouvée dans la littérature.

Le diméthylamine ne subit probablement pas de photolyse directe dans l'eau étant donné sa très faible adsorption dans le spectre solaire (HSDB 2000).

Le diméthylamine peut-être considéré comme une substance facilement biodégradable : une demi-vie de 1.6 jours a été mesurée dans des eaux de surface d'une rivière polonaise (« Vistula River ») (Dojlido 1979)  
Howard et al. 1991 rapportent des demi-vies allant de 2 à 79 heures et de 8 à 316 heures dans l'eau en conditions aérobies et anaérobies respectivement

### 1.3 Bioaccumulation

HSDB 2000 rapporte une valeur de BCF égale à 3, calculée à partir du Log Kow de -0.38 (Hansch et al. 1995). SRC 1988 indique un log BCF = -0.52 soit un BCF de 0.3 environ. Ces valeurs suggèrent un faible potentiel de bioconcentration du diméthylamine chez les organismes aquatiques.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC <sub>03</sub> (7 j.)	2.6	4	Trenel et Kühn 1982
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	6.2 (3 – 12.8)	1	Calamari et al. 1979
	<i>Selenastrum capricornutum</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	9	1	Calamari et al. 1980
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	30	2	Van Leeuwen et al. 1985
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	46 (40.1 – 52.8)	2	Calamari et al. 1979
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	48 (44 – 52)	2	Calamari et al. 1980
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	50 (44.2 – 56.5)	2	Van Leeuwen et al. 1985
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	88.7	4	BASF AG
	<i>Crangon crangon*</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	> 100	3	Portmann et Wilson 1971
	<i>Daphnia magna</i>	EC <sub>50</sub> (24 h)	98	4	Trenel et Kühn 1982
Poissons	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	17	3	Calamari et al. 1980
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	20	3	Calamari et al. 1979
	<i>Semotilus atromaculatus</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	30 < LC <sub>50</sub> < 50	4	Gillette et al. 1952
	<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	55	4	US-EPA 1979
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	118 (111 – 125)	2	Calamari et al. 1980
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	120	2	Calamari et al. 1979
	<i>Percu fluviatilis</i>	TDL <sub>0</sub> (96 h)	150	4	Nehring 1966
	<i>Rutilus rutilus</i>	TDL <sub>0</sub> (96 h)	200	4	Nehring 1966
	<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	210 (127 – 349)	2	Van Leeuwen et al. 1985
	<i>Danio rerio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	396.7	4	Groth et al. 1993
	<i>Oryzias latipes</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1000	3	Tonogai et al. 1982

\*espèce marine

#### Algues :

L'essai de Ternel et Kühn 1982 sur *Scenedesmus subspicatus* est cité dans la base de données AQUIRE et le résultat ( $EC_{03} = 2.6$  mg/L) a pu être vérifié dans la publication originale. La durée d'exposition est de 7 jours et l'effet mesuré est l'histologie algale.

*La durée de l'essai apparaît trop longue : il n'est pas assuré que les algues se trouvaient encore en condition de croissance exponentielle. La consultation du rapport en allemand n'a pas permis de déterminer les détails du protocole expérimental et donc de juger de sa validité.*

Calamari et al. 1979 ont testé la toxicité du diméthylamine sur *Selenastrum capricornutum*. Ils ont suivi une méthode standard de l'EPA<sup>44</sup> (1971), « Algal Procedure Bottle Test with *Selenastrum capricornutum* ». Les caractéristiques du milieu sont : dureté de 320 mg  $CaCO_3/L$ , pH de 7.2, teneur en oxygène > 95% de la saturation, température de 15 °C. Le critère d'effet mesuré au cours de la phase de croissance (96 heures) est l'inhibition de la croissance algale. La densité algale a été déterminée par mesure fluorométrique de la chlorophylle à 48, 72, 96 heures et a été prolongée jusqu'à 7 jours. Sept concentrations (1, 2, 5, 10, 20, 40 et 80 mg/L) et un groupe témoin ont été testés. Les courbes de croissance obtenues pour chaque concentration d'essai sont représentées. Une  $EC_{50}$  (96 h) = 6.2 (3 – 12.8) mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*L'essai a été réalisé selon une méthode normalisée. La durée de l'essai préconisé à l'époque dans la norme de l'EPA est certes supérieure à celle recommandée actuellement par la ligne directrice 201 de l'OCDE (72 heures) mais d'après les courbes de croissance présentées dans le rapport, les algues se situent bien en phase exponentielle de croissance jusqu'à 96 heures. L'essai est donc jugé valide.*

L'essai de Calamari et al. 1980 sur la toxicité du diméthylamine vis-à-vis de *Selenastrum capricornutum* a été réalisé suivant le même protocole que Calamari et al. 1979. Les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations nominales mais un suivi analytique des concentrations a été réalisé et indique que celles-ci n'ont pas différé de plus de 10 % de leur valeur nominale. La  $EC_{50}$  à 96 h a été déterminée à 9 mg/L.

*La valeur obtenue est du même ordre de grandeur que celle obtenue en 1979. Etant donné que le même protocole a été suivi, cet essai est considéré valide.*

Van Leeuwen et al. 1985 a réalisé un essai de toxicité aiguë sur *Chlorella pyrenoidosa*. La pureté de la substance est  $\geq 98$  %. La concentration cellulaire initiale dans la solution d'essai est de  $10^8$  cellules/L. La température du milieu est de  $20 \pm 1^\circ C$ . Les tests ont été réalisés en triplicat dans des erlenmeyers fermés de 200 mL (avec 100 mL de solution d'essai) et sous un éclairage de  $7.5 W.m^{-2}$  (environ 5000 lux). La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen et Maas 1985. Le critère d'effet mesuré est le taux de croissance comme le définit la ligne directrice 201 de l'OCDE. Une  $EC_{50}$  (96 h) a été déterminée égale à 30 mg/L.

*L'essai est peu détaillé. La valeur des concentrations d'essai utilisées, le pH et la concentration cellulaire dans les cultures témoins à la fin du test ne sont pas indiquées. Par conséquent, l'essai est considéré valide avec restrictions.*

#### Micro-crustacés :

Calamari et al. 1979 ont testé la toxicité aiguë et chronique (cf. partie 2.2) du diméthylamine sur *Daphnia magna*. L'essai court terme a été réalisé suivant la méthode standard AFNOR<sup>45</sup> (1974). Les caractéristiques du milieu sont : dureté de 320 mg  $CaCO_3/L$ , pH de 7.2, teneur en

---

<sup>44</sup> EPA (1971). *Algal Assay Procedure Bottle Test*. National Eutrophication Research Program, U.S. Environmental Protection Agency, Corvallis, Oreg.

oxygène > 95% de la saturation, température de 20 °C. L'effet étudié sur 24 heures est l'inhibition de la mobilité. Une EC<sub>50</sub> (24 h) = 46 (40.1 – 52.8) mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales.

*L'essai a été réalisé selon une méthode normalisée. Peu d'informations sont fournies sur les témoins et le respect des critères de validité de la norme. Il est à noter que la dureté de l'eau et la durée de l'essai ne sont pas conformes aux valeurs préconisées par la ligne directrice 202 de l'OCDE (dureté comprise entre 140 et 250 mg CaCO<sub>3</sub>/L, durée d'exposition de 48 h). Compte-tenu de ces remarques, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

En 1980, Calamari *et al.* ont testé, seulement à court terme, la toxicité du diméthylamine sur *Daphnia magna*. La méthode standard AFNOR (1974) a également été suivie. La dureté de l'eau est de 320 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations nominales mais un suivi analytique des concentrations a été réalisé et indique qu'elles n'ont pas différé de plus de 10 % de leur valeur nominale. L'effet étudié sur 24 heures est l'inhibition de la mobilité. Une EC<sub>50</sub> (24 h) = 48 (44 – 52) mg/L a été déterminée.

*La valeur obtenue est du même ordre de grandeur que celle obtenue en 1979 et l'intervalle de confiance est très similaire. Etant donné que le même protocole a été suivi, et compte-tenu des remarques précédentes, cet essai est considéré valide avec restrictions.*

Van Leeuwen *et al.* 1985 ont réalisé un essai semi-statique sur *Daphnia magna* (< 24 h) en système fermé avec une substance de pureté ≥ 98 %. L'essai a été réalisé suivant la ligne directrice 202 de l'OECD 1981, avec quelques modifications : un renouvellement journalier des solutions d'essai a été effectué et les daphnies ont été nourries avec 10<sup>8</sup> cellules/L de *Chlorella pyrenoidosa*. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen *et Maas* 1985. La LC<sub>50</sub> (48 h) a été déterminée à 50 (44.2 – 56.5) mg/L.

*L'utilisation d'un système fermé a permis de limiter les éventuelles pertes de substance par volatilisation. La ligne directrice 202 de l'OCDE a été suivie, mais l'essai est peu détaillé et il n'a pas été possible de consulter la publication de Van Leeuwen *et Maas* 1985. Les conditions d'incubation, la mortalité obtenue dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées ne sont pas indiquées. De plus, les daphnies ne devraient pas être nourries pendant l'essai. Sous ces restrictions, l'essai est considéré valide.*

IUCLID 2000 cite des données issues de BASF AG : EC<sub>50</sub> (24 h) = 102 mg/L et EC<sub>50</sub> (48 h) = 88.7 mg/L. Il est rapporté que la directive 84/449/EEC, C.2 « Acute toxicity for *Daphnia* » a été suivie.

*Compte-tenu de l'indisponibilité du rapport, il n'a pas été possible de juger de la validité de l'essai.*

L'essai de Portmann *et Wilson* 1971 sur l'espèce marine, *Crangon crangon*, fait partie d'une vaste étude de toxicité menée pour 140 substances sur *Crangon crangon* et *Ostrea edulis*. Les essais ont été réalisés en condition statique mais le milieu a été aéré en continu. La température a été maintenue à 15°C. Des groupes de 8 à 25 individus ont été utilisés par concentration d'essai dans 10 L de milieu. Les organismes n'ont pas été nourris durant le test. La durée d'exposition usuelle est de 48 h mais il est rapporté qu'un certain nombre de substances auraient été testées sur 96 h en système semi-statique (renouvellement journalier). La base de données AQUIRE indique une durée d'exposition de 48 h et un mode de contamination renouvelé. Cependant, ceci n'a pas pu être vérifié dans la publication originale. La LC<sub>50</sub> déterminée est strictement supérieure à 100 mg/L.

---

<sup>45</sup> AFNOR (1974). Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Strauss (crustacés cladocères). Norme Expérimentale N.F.T 90-301, 1974.

*L'essai est très peu détaillé et le protocole a été généralisé pour les deux types d'espèces testées et pour l'ensemble des 140 substances. Il n'a donc pas été possible de déterminer précisément les concentrations et le nombre d'individus testés, le mode de contamination et la durée de l'exposition. De plus, la qualité du milieu et les résultats obtenus pour le groupe témoins ne sont pas indiqués. Par ailleurs, la LC<sub>50</sub> déterminée ne fait vraisemblablement pas partie de la gamme de concentration testée. Par conséquent, l'essai est jugé non valide.*

L'essai de Trenel et Kühn 1982 sur *Daphnia magna* est cité dans la base de données AQUIRE et les résultats (EC<sub>50</sub> = 98 et 286 mg/L) ont pu être vérifiés dans la publication originale. AQUIRE rapporte un mode de contamination non renouvelé et une durée d'exposition de 24 heures.

*La consultation du rapport en allemand n'a pas permis de déterminer les détails du protocole expérimental. Il n'est donc pas possible de juger de la validité de l'essai.*

#### Poissons :

Calamari et al. 1979 ont testé la toxicité aiguë et chronique (cf. partie 2.2) du diméthylamine sur *Oncorhynchus mykiss*. L'essai court terme a été réalisé suivant la méthode standard IRSA<sup>46</sup> (1973). Les caractéristiques du milieu sont : dureté de 320 mg CaCO<sub>3</sub>/L, pH de 7.2, teneur en oxygène > 95% de la saturation, température de 15 °C. Un suivi analytique des concentrations a été réalisé. La mortalité a été mesurée à 96 heures. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 120 mg/L a été déterminée à partir des concentrations nominales. D'autre part, une LC<sub>50</sub> (96 h) = 20 mg/L est rapporté pour une dureté de l'eau de 20 mg CaCO<sub>3</sub>/L.

*L'essai est moyennement documenté mais une méthode standard a été suivie. L'OCDE recommande d'utiliser une eau dont la dureté totale est comprise entre 10 et 250 mg/L de CaCO<sub>3</sub>. Par ailleurs, les auteurs de cet essai ont également conduit en 1980 un essai sur *Oncorhynchus mykiss* (décrit ci-dessous) suivant le même protocole. Or, dans la publication de 1980, il est rapporté que les résultats des tests menés dans une eau de dureté de 20 mg CaCO<sub>3</sub>/L n'ont pas été traités statistiquement et qu'ils ne sont donnés qu'à titre indicatif. Dans le doute, seul le résultat obtenu dans une eau à 320 mg CaCO<sub>3</sub>/L de dureté est considéré valide avec restrictions compte-tenu de la forte dureté de l'eau.*

En 1980, Calamari *et al.* ont testé, seulement à court terme, la toxicité du diméthylamine (40% de pureté) sur *Oncorhynchus mykiss*. La méthode standard IRSA (1973) a également été suivie. Les caractéristiques du milieu sont : dureté de 320 mg CaCO<sub>3</sub>/L, pH de 7.4, teneur en oxygène > 95% de la saturation, température de 15 °C. Les résultats sont exprimés par rapport aux concentrations nominales mais un suivi analytique des concentrations a été réalisé et indique que celles-ci n'ont pas différé de plus de 10 % de leur valeur nominale. Une LC<sub>50</sub> (96 h) = 118 (111 – 125) mg/L a été déterminée mais il est précisé dans la publication originale que cette valeur n'est donnée qu'à titre indicatif.

Un essai dans de l'eau à 20 mg CaCO<sub>3</sub>/L de dureté a également été réalisé mais aucun traitement statistique des résultats n'a été effectué. Il est rapporté une LC<sub>50</sub> (96 h) = 17 mg/L.

*Les résultats obtenus sont inférieurs à ceux obtenus en 1979 et pourtant le même protocole a été suivi. L'absence de traitements statistiques des résultats obtenus dans une eau à 20 mg CaCO<sub>3</sub>/L de dureté ne permet pas de valider la LC<sub>50</sub> (96 h) = 17 mg/L. Par contre, le résultat obtenu en eau dure (320 mg CaCO<sub>3</sub>/L) est considéré valide avec restrictions compte-tenu de la forte dureté de l'eau et du degré de pureté de la substance d'essai.*

Les essais de Gillette et al. 1952, Groth et al. 1993, Nehring 1966 et US-EPA 1979 n'ont pu être consultés dans les publications originales.

---

<sup>46</sup> IRSA (1973). Metodi analitici per le acque, III. *Quaderni dell'Istituto di Ricerca sulle Acque* 11, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma.

*Compte-tenu de l'indisponibilité des rapports, il n'a pas été possible de juger de la validité des essais.*

Van Leeuwen et al. 1985 ont également réalisé un essai semi-statique (renouvellement journalier) sur *Poecilia reticulata* selon la ligne directrice 203 de l'OCDE. La composition du milieu d'essai est donnée dans Van Leeuwen et Maas 1985. L'essai a été conduit en récipients fermés. La pureté de la substance testée est  $\geq 98 \%$ . La  $LC_{50}$  (96 h) a été déterminée à 210 (127 – 349) mg/L.

*L'utilisation d'un système fermé a permis de limiter les éventuelles pertes de substance par volatilisation. Aucune information n'a été fournie sur les conditions d'incubation des poissons, la mortalité obtenue dans les groupes témoins et les concentrations d'essai utilisées. Cependant, la ligne directrice 203 de l'OCDE a été suivie. Compte-tenu de ces remarques et de la forte amplitude de l'intervalle de confiance, l'essai est considéré valide sous restrictions.*

Tonogai et al (1982) ont réalisé un essai statique de toxicité aiguë sur *Oryzias latipes*. Dix organismes de même âge (une masse unitaire de 0.2 g et 2 cm de longueur) préalablement acclimatés pendant 10 jours à l'eau du robinet, sont placés dans 2 litres d'eau déminéralisée à 25°C. La concentration en oxygène dissous est surveillée au cours du test. L'essai a été mené conformément à la procédure recommandée par le Japanese Industrial Standards Committee (1971). Aucune précaution n'a été prise pour limiter la volatilisation de la substance. Par ailleurs, la  $LC_{50}$  (24 h et 48 h) de 1000 mg/L est basée sur les concentrations nominales. Aucune information concernant le nombre de réplicat, le suivi du pH ou encore les effets observés dans les lots témoins, n'est précisée.

*L'essai est très peu détaillé. Le protocole de l'essai diffère de celui recommandé par l'OCDE, notamment sur la durée du test (96h minimum sont recommandées par l'OCDE 203 pour les tests aigus sur poissons). La  $LC_{50}$  sur *Oryzias latipes* apparaît bien supérieure aux autres données d'écotoxicité sur poisson. Compte tenu de la nature volatile du diméthylamine, des précautions pour limiter sa volatilisation auraient été souhaitables. Du fait de l'absence de suivi analytique dans cet essai statique et du manque de précaution, le résultat est jugé invalide.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Selenastrum capricornutum</i>	NOEC (96 h)	2	1	Calamari et al. 1980
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (30 j.)	10	3	Calamari et al. 1979
Poissons	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEC (30 j.) croissance	$\geq 21.6$	2	Calamari et al. 1979

### Algues :

Suivant le même protocole que Calamari et al. 1979 (cf. partie 2.1), Calamari et al. 1980 ont déterminé que la plus forte concentration ne provoquant aucun effet significatif sur la croissance algale est de 2 mg/L.

*L'essai est considéré valide pour les raisons invoquées en 2.1.*

#### Micro-crustacés :

Calamari et al. 1979 ont étudié l'effet du diméthylamine sur la croissance et la reproduction de *Daphnia magna* pendant 30 jours. L'essai a été réalisé dans des conditions (dureté de l'eau : 320 mg CaCO<sub>3</sub>/L, pH : 7.2, teneur en oxygène > 95% de la saturation, température : 20 °C) semi-statiques (renouvellement journalier). Une photopériode de 16 h a été appliquée. 25 individus âgés de 12 ± 12 heures ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le témoin dans 500 mL de milieu. Les daphnies ont été nourries quotidiennement avec *Selenastrum sp.* Quatre concentrations ont été testées : 1 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L et 15 mg/L. Le dénombrement des descendants vivants a été réalisé chaque jour. La NOEC (reproduction) sur 30 jours a été déterminée à 10 mg/L à partir des concentrations nominales.

*Les critères de validité de l'essai définis par la ligne directrice 211 de l'OCDE (à la fin de l'essai, la mortalité des adultes témoins doit être ≤ 20% et le nombre moyen de descendants vivants produits par adulte témoin doit être ≥ 60) n'ont pas été vérifiés. En l'absence de ces informations cruciales, l'essai est considéré comme non valide.*

#### Poissons :

Calamari et al. 1979 ont mené deux types d'essais chroniques sur *Oncorhynchus mykiss* : l'un sur la croissance des juvéniles et l'autre aux premiers stades de la vie. Ces deux essais ont été réalisés dans des conditions de milieu (dureté de l'eau : 320 mg CaCO<sub>3</sub>/L, pH : 7.2, teneur en oxygène > 95% de la saturation) dynamiques. Un suivi analytique des concentrations a été mené et les résultats ont été déterminés à partir de la moyenne des concentrations mesurées. Par ailleurs, une étude des effets sur l'histologie des reins, des branchies et du foie a également été réalisée.

#### Test sur la croissance des juvéniles :

Cet essai a été réalisé à une température de 15 °C. Des groupes de 25 individus (10 cm de long) ont été exposés aux différentes concentrations d'essai pendant 30 jours. Un groupe témoin a également été réalisé. Chaque groupe a reçu 800 mg de nourriture par jour et les poissons ont été pesés à la fin de l'essai. Au bout de 30 jours, aucune des concentrations testées n'a eu d'effets significatifs sur la croissance (NOEC ≥ 21.6 mg/L). Par ailleurs, aucun dommage histologique n'a été observé à la plus forte concentration testée.

*Les résultats de cet essai (poids moyens des organismes, intervalle de confiance) sont fournis dans le rapport. Cependant, la gamme de concentrations testées apparaît mal adaptée car la NOEC est supérieure à la plus forte concentration testée. Le résultat de cet essai est donc jugé valide avec restrictions. Néanmoins, cette étude permet de mettre en évidence que les poissons ne sont pas les organismes les plus sensibles en chronique.*

#### Test aux premiers stades de la vie :

Cet essai a été réalisé à une température de 10 - 12 °C. 100 œufs répartis en deux groupes (groupe I = 75 œufs ; groupe II = 25 œufs) ont été utilisés pour chacune des 5 concentrations d'essai et pour le témoin. Les concentrations ont été mesurées 2 fois par semaine. L'essai a duré 50 jours, depuis le stade œuf et jusqu'à ce que les poissons se nourrissent de façon autonome pendant une semaine. Au bout de 50 jours, une mortalité de 42 % et de 27 % a été enregistrée dans les groupes témoins I et II respectivement. Dans le groupe I, les mortalités obtenues pour les trois plus faibles concentrations testées (33%, 37% et 37%) étaient inférieures à celle obtenue pour le témoin (42 %) ce qui n'est pas le cas du groupe II. Pour le groupe II, aucune relation dose-effet n'a pu être établie.

*Plusieurs remarques peuvent être émises concernant cet essai : les œufs n'ont pas été répartis de façon égale entre les deux enceintes de l'essai, contrairement à ce que préconise la ligne directrice OCDE 210 (« Pour chaque concentration, on doit utiliser au moins 60 œufs, répartis de façon égale entre au moins deux enceintes d'essai identiques »), aucune information n'est fournie sur la nourriture administrée aux poissons ni sur la*

photopériode, la durée de l'essai est plus courte que celle recommandée par la ligne directrice OCDE 210 (60 jours). Enfin, une des conditions de validité définie par la ligne directrice OCDE 210 est que le taux de survie des œufs fécondés dans les témoins soit > 70 %. Etant donné que cette condition n'est pas remplie pour le groupe I et qu'aucune relation dose-effet n'a pu être mise en évidence dans le groupe II, ce test n'est pas jugé valide.

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

Il existe des résultats d'essais chroniques validés pour deux niveaux trophiques différents (algues et poissons). Etant donné qu'en aigu, l'algue *Selenastrum capricornutum* est la plus sensible (EC50(96h) = 6.2 mg/L, Calamari et al. 1979) et que la plus basse NOEC est également celle relative à l'algue *Selenastrum capricornutum* (NOEC = 2 mg/L, Calamari et al. 1980), la PNECaqua sera dérivée sur la base de ce résultat en appliquant un facteur de sécurité de 50, conformément à la table 16 du TGD : PNECaqua = 2 / 50

$$\text{PNECaqua} = 40 \mu\text{g/L}$$

### 4. BIBLIOGRAPHIE

AQUIRE. <http://www.epa.gov/ecotox/>

BASF AG "Labor Oekologie, unpublished data (0154/88)."

Boublik, T., V. Fried and E. Hala (1984). The Vapour Pressures of Pure Substances. Amsterdam, Elsevier Sci. Publ.

Calamari, D., R. Da Gasso, S. Galassi, A. Provini and M. Vighi (1980). "Biodegradation and Toxicity of Selected Amines on Aquatic Organisms." Chemosphere 9(12): 753-762.

Calamari, D., S. Galassi and R. Da Gasso (1979). "A System of Tests for the Assessment of Toxic Effects on Aquatic Life: An Experimental Preliminary Approach." Ecotoxicol. Environ. Saf. 3: 75-89.

Christie, A. O. and D. J. Crisp (1967). "Activity coefficients of the n-primary, secondary and tertiary aliphatic amines in aqueous solution." J. Appl. Chem. 17: 11-14.

Daubert, T. E. and R. P. Danner (1989). Physical and thermodynamic properties of pure chemicals data compilation. Washington, D.C., Taylor and Francis.

Dean, J. (1985). Lange's Handbook of Chemistry. New York, McGraw-Hill Book Co.

Dojlido, J. R. (1979). Investigations of biodegradability and toxicity of organic compounds, U.S. EPA.

Gillette, L. A., D. L. Miller and H. E. Redman (1952). "Appraisal of a Chemical Waste Problem by Fish Toxicity Tests." Sewage Ind. Wastes 24: 1397-1401.

Groth, G., K. Schreeb, V. Herdt and K. J. Freundt (1993). "Toxicity Studies in Fertilized Zebrafish Eggs Treated with N-Methylamine, N,N-Dimethylamine, 2-Aminoethanol, Isopropylamine, Aniline, N-Methylaniline." Bull. Environ. Contam. Toxicol. 50: 878-882.

Hansch, C., A. Leo and D. Hoekman (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington, DC., American Chemical Society.

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

HSDB (2000). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

- IUCLID (2000). International Uniform Chemical Information Database.
- Lide, D. R. (1998-1999). CRC-Handbook of chemistry and physics. Boca Raton, FL, CRC-press Inc.
- Lyman, W. J., W. F. Reehl and D. H. Rosenblatt (1982). Handbook of Chemical Property Estimation Methods; Environmental Behavior of Organic Compounds. New York, McGraw-Hill,
- Nehring, D. (1966). Z. Fisch. Deren Hilfswiss 14((1-2)): 1-8.
- OECD (1981). Guidelines for testing of chemicals. Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development.
- Portmann, J. E. and K. W. Wilson (1971). The Toxicity of 140 Substances to the Brown Shrimp and Other Marine Animals. Shellfish Information Leaflet No.22 (2nd Ed.). Station Conway, North Wales, Ministry of Agric.Fish.Food, Fish.Lab.Burnham-on-Crouch, Essex, and Fish Exp.: 12 p.
- Rao, P. S. C. and J. M. Davidson (1982). Retention and transformation of selected pesticides and phosphorus in soil-water systems : a critical review. Athens, GA, U.S. EPA.
- SRC (1988). Syracuse Research Corporation calculated values.
- Tonogai, Y., S. Ogawa, Y. Ito and M. Iwaida (1982). "Actual Survey on TLM (Median Tolerance Limit) Values of Environmental Pollutants, Especially on Amines, Nitriles, Aromatic Nitrogen Compounds." J.Toxicol.Sci. 7(3): 193-203.
- Trenel, J. and R. Kühn (1982). "Bewertung Wassergefährdender Stoffe im Hinblick auf Lagerung, Umschlag und Transport." Inst. Wasser- Boden- Lufthyg. Bundesgesundheitsamt: 12-14, 25-27, Anlage 2 (23-28), Anlage 4 (1-5).
- US-EPA (1979). Report 600/2-79-163, S. 85., US-EPA.
- Van Leeuwen, C. J. and H. Maas (1985). "The aquatic toxicity of 2,6-dichlorobenzamide (BAM), a degradation product of the herbicide dichlobenil." Environ. Pollut. Ser. A. 37: 105-115.
- Van Leeuwen, C. J., J. L. Maas-Diepeveen, G. Niebeek, W. H. A. Vergouw, P. S. Griffioen and M. W. Luyken (1985). "Aquatic toxicological aspects of dithiocarbamates and related compounds. Short-term tests." Aquat. Toxicol. 7: 145-164.
- Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.
- Yaws, C. L., H.-C. Yabg, J. R. Hopper and K. C. Hansen (1990). "Organic chemicals : water solubility data." Chem. Eng. July: 115-118.



# Epichlorhydrine – n° CAS : 106-89-8

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Formule brute :	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> ClO
Etat physique :	Liquide
Poids moléculaire :	92,53 g/mol
Point de fusion :	-48 °C (IPCS-INCHEM)
Point d'ébullition :	116,5 °C (IPCS-INCHEM)
Pression de vapeur :	1,6.10 <sup>3</sup> à 20 °C (IPCS-INCHEM)
Solubilité :	6,59.10 <sup>4</sup> mg/L (IPCS-INCHEM)
Log Kow :	0.45 (Deneer et al., 1988)
Constante de Henry :	2,43 Pa.m <sup>3</sup> /mol (calculé)
Densité :	1,183 (IPCS-INCHEM)

Compte tenu de sa forte solubilité (6,59.10<sup>4</sup> mg/L) et de sa constante de Henry (2,43 Pa.m<sup>3</sup>/mol), l'épichlorhydrine est considéré comme très soluble et sensiblement volatile. Ce caractère volatile implique de prendre des précautions particulières lors de la réalisation des essais écotoxicologiques pour maintenir une concentration constante de la substance dans le milieu : système clos, renouvellement continu du milieu. De plus, un suivi analytique de la concentration est souhaitable.

### 1.2 Persistance

Par la méthode de l'essai du MITI modifié (selon ligne directrice OCDE 301 C), Kondo et al., 1988 ont déterminé, pour une concentration en épichlorhydrine de 100 mg/L, un pourcentage de biodegradation de 60% après 3 jours d'incubation dans de l'eau de rivière.

### 1.3 Bioaccumulation

Aucune détermination expérimentale de la bioconcentration de l'épichlorhydrine n'a été trouvée pour des organismes aquatiques. Toutefois, certaines estimations par QSAR<sup>47</sup> sont disponibles comme par exemple celle de Santodonato et al., 1980 qui trouvent un BCF=0,66. Compte tenu de ces estimations et du faible log Kow de cette substance, son potentiel de bioaccumulation est probablement faible.

---

<sup>47</sup> QSAR : Quantitative Structure Activity Relationship.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	ECr (72 h)	24.2	1	INERIS, 2006
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	EC50 (48 h)	8.87 - 16.07	2	INERIS, 2006
	<i>Daphnia magna</i>	LC50 (48h)	23.9	3	Gersich et al., 1986
	<i>Daphnia magna</i>	LC50 (24h)	30	3	Bringmann et Kühn, 1977b
	<i>Daphnia magna</i>	LC50 (24h)	40	3	Bringmann et Kuhn, 1982
Poissons	<i>Poecilia reticulata</i>	LC50 (14j)	0.65	1	Deneer et al., 1988
	<i>Pimephales promelas</i>	LC50 (96h)	10.6	3	Mayes et al., 1983
	<i>Cyprinodon variegatus</i> *	LC50 (96h)	11.8	4	Dawson et al., 1975
	<i>Menidia beryllina</i> *	LC50 (96h)	18	4	Dawson et al., 1975
	<i>Carassius auratus</i>	LC50 (24h)	23	2	Bridié et al., 1979
	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	LC50 (48h)	24	4	Juhnke et Lüdemann, 1978
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC50 (24h)	26.87	2	Lysak et al., 1972
	<i>Brachydanio rerio</i>	LC50 (96h)	30.5	2	Wellens, 1982
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC50 (96h)	35	1	Dawson et al., 1975
	<i>Rasbora heteromorpha</i>	LC50 (48h)	36	2	Alabaster, 1969
Amphibiens	<i>Pleurodeles waltl</i>	12 jours	1 - 2	2	Fernandez et al., 1989

\* espèce marine

#### Algues :

Aucune donnée pour les algues n'a été trouvée dans la littérature pour l'épichlorhydrine. Un test sur *Pseudokirchneriella subcapitata* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006. La ligne directrice 201 de l'OCDE a été suivie. Des flacons étanches de 150 mL ont été utilisés. La EC50 72 h, par rapport au taux de croissance, a été déterminée à 24.2 mg/L en terme de concentrations mesurées. Les critères de validité ont été respectés : la concentration cellulaire dans les cultures témoins a été multipliée par un facteur supérieur à 16 sur la période de 3 jours.

#### Micro-crustacés :

Bringmann et Kühn (1977) ont déterminé la LC50 d'une population sauvage de daphnies âgées de 24h. Les conditions expérimentales étaient les suivantes : température : 20-22°C, pH : 7,6-7,7, dureté : 286,4 mg/l de CaCO<sub>3</sub>, durée d'exposition : 24h. La concentration en oxygène dissous n'est pas connue. Les concentrations testées ont été obtenues par dilutions successives (2 en 2) à partir d'une solution mère. Trois réplicats ont été réalisés par concentration. Les récipients d'essai n'étaient pas fermés.

*Les auteurs n'ont pris aucune mesure de précaution quant à la volatilité de la substance (système clos, renouvellement du milieu). De plus, il n'y a pas eu de suivi analytique. Cet essai n'est pas considéré valide.*

Bringmann et Kühn (1982) ont déterminé la LC50 d'une population de *Daphnia* âgées de 24h. Les conditions étaient les suivantes : température : 20°C, pH : 8, dureté : 250 mg/l de CaCO<sub>3</sub>, durée d'exposition : 24h. La concentration en oxygène dissous était supérieure à 2mg/l ce qui

est en accord avec la norme ISO. Les concentrations testées ont été obtenues par dilutions successives (2 en 2) à partir d'une solution mère. Deux réplicats ont été réalisés par concentration. Les récipients d'essais n'étaient pas fermés.

*La publication ne précise pas si des précautions ont été prises lors de la préparation des solutions testées, dont les concentrations effectives d'épichlorhydrine n'ont pas été mesurées. Les récipients d'essais n'ont pas été bouchés, le milieu n'a pas été renouvelé. Compte tenu de la volatilité de la substance, ces différentes lacunes ne permettent pas de valider cet essai.*

L'essai de Gersich et al. (1986) a porté sur *Daphnia magna* (de moins de 24h) dans des conditions (température : 19.8-20.9°C, pH : 7.7-9.3, O<sub>2</sub> dissous >90% de saturation, dureté de l'eau : 157±4 mg/l CaCO<sub>3</sub>) statiques. De l'eau naturelle (lac Huron) a été utilisée pour la culture et les tests. Les daphnies ont été testées en accord avec une norme de l'ASTM (1980)<sup>48</sup> par lot de 10, en 3 réplicats. La LC50 donnée (23,9 mg/l) correspond à la moyenne géométrique des trois LC50 (48h) déterminées grâce aux 3 réplicats (21,0 ; 22,6 ; 28,9). Il n'y a pas eu de suivi analytique. La mortalité chez les témoins a été de 0,6%.

*Aucune mesure de précaution (système clos, renouvellement du milieu) n'a été prise afin de limiter la perte d'épichlorhydrine par volatilisation. De plus, il n'y a pas eu de suivi analytique. Cet essai n'est pas considéré valide.*

Un test sur *Daphnia magna* a été réalisé dans le laboratoire de l'INERIS. Le détail du protocole expérimental est donné dans INERIS, 2006. La ligne directrice 202 de l'OCDE a été suivie. Des flacons à espace de tête sertis de 20 mL ont été utilisés. La EC50 (immobilisation) exprimée en terme de concentrations mesurées, est comprise entre 8.87 et 16.07 mg/L (Les résultats obtenus, 0% de mortalité à 8.87 mg/L et 100% de mortalité à 16.07 mg/L, ne permettent pas de déterminer une EC50 précise). La sensibilité des daphnies a été vérifiée par rapport au dichromate de potassium et est conforme aux recommandations de l'OCDE. Les critères de validité ont été respectés : la mortalité dans les témoins n'a pas excédé 10%, la concentration en oxygène dissous à la fin de l'essai est restée supérieure à 3 mg/L.

*Pour obtenir une valeur de EC50 précise, il aurait été nécessaire de réaffiner la gamme de concentration testée. Les conditions expérimentales sont néanmoins valide et il sera tenu compte de ce résultat.*

#### Poissons :

Alabaster (1969) a mené une étude sur *Rasbora heteromorpha*. Pour chaque concentrations, dix poissons de 1,3 à 3 cm de long furent placés dans des récipients de 500 ml. L'eau de dilution des solutions testées était d'une dureté d'environ 20 ppm de CaCO<sub>3</sub>, le pH de 7,2 et la température de 20 °C. Le mode de contamination est continu : remplacement automatique de 100 mL toutes les 10 minutes.

*L'étude ne fait pas mention de paramètres tels que la mortalité chez les témoins ou la concentration en oxygène dans le milieu. Par ailleurs il n'y a pas de suivi analytique. Toutefois le milieu étant renouvelé en continu, on peut s'attendre à ce que la concentration en substance soit maintenue et que la teneur en oxygène dissous soit suffisante. L'étude est jugée valide avec restriction.*

L'essai de Bridié et al. (1979) sur *Carassius auratus* (6,2 ±0,7 cm ; 3,3 ±1,0 g) a été réalisé dans des conditions (température : 20±1°C, O<sub>2</sub> dissous > 4 mg/l, dureté de l'eau : 25 mg/L CaCO<sub>3</sub>) statiques et les milieux d'essai étaient couverts. L'essai a suivi les lignes directrices de

---

<sup>48</sup> ASTM (1980): American Society for Testing and Materials (1980). Standard practice for conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates and amphibians. ASTM Standard E729-80. Philadelphia, PA. pp 1-25.

l'APHA (1972)<sup>49</sup>. Pour limiter la volatilisation engendrée par l'aération du milieu, et au vu du mode de contamination statique, la durée du test a été amenée à 24h, c'est à dire que la concentration en oxygène dissous n'a pas été en deçà de 4 mg/L. Les concentrations en substance active ont été mesurées au début et à la fin de l'essai. La perte par évaporation a été estimée inférieure à 10%.

*L'essai est considéré valide avec restrictions du fait de la durée de l'essai (24 h) inférieure à la durée de 96 h préconisée notamment par la ligne directrice 203 de l' OCDE.*

Dawnor et al. (1975) ont testé la toxicité de l'épichlorhydrine sur *Lepomis macrochirus* (33-75 mm) dans des conditions (température = 23 °C ; pH = 7,6 - 7,9 ; dureté = 55 mg/l de CaCO<sub>3</sub>) de contamination semi-continues (renouvellement partiel périodique du milieu d'essai). La durée de l'essai était de 96h, ce qui correspond aux recommandations actuelles de l'OCDE. La gamme testée comprenait 5 concentrations plus un témoin. L'acclimatation de 14 jours a permis d'écarter les lots de poissons où la mortalité était supérieure à 5%. Les poissons n'ont plus été nourris 48 heures avant le début de l'essai. Un système clos a été utilisé. Un dispositif d'aération dont le fonctionnement dépend du taux d'oxygène dissous a été mis en place afin d'éviter une sous-oxygénation du milieu.

*Le taux d'oxygène dissous, bien que non apparent dans l'étude est supposé suffisant du fait de la présence d'un dispositif adapté. De plus, le système est clos, l'étude est donc considérée valide.*

Deneer et al. (1988) ont testé la toxicité aiguë de l'épichlorhydrine sur *Poecilia reticulata* par un test prolongé de 14 jours. La méthode de ce test est repris dans une autre publication (Deneer et al., 1987). Les conditions étaient les suivantes : température entre 21 et 23°C, éclairage artificiel de 12h/jour. La contamination était semi-statique avec un renouvellement quotidien. Les récipients d'essai contenaient 1,4 L de solution et étaient fermés par des couvercles. La gamme comprenait au moins 5 concentrations de substances testées, avec un facteur 1.8 entre elles. Les poissons provenaient d'un élevage du laboratoire, étaient âgés de 2 à 3 mois au début de l'expérience. Ils ont été acclimatés pendant au moins 12 jours à l'eau qui a servi à la réalisation de ce test. L'eau d'essai a été préparée selon la méthode décrite par Alabaster (Alabaster et Adams, 1964). Dix poissons ont été exposés pour chaque concentration. Ils ont été nourris quotidiennement durant l'essai. La concentration en oxygène dissous, le pH et la concentration en épichlorhydrine ont été mesurées 4 fois juste avant renouvellement du milieu et 4 fois juste après durant les 14 jours de l'essai pour 2 concentrations de la gamme testée. Ces mesures ont été réalisées par Chromatographie en Phase Gazeuse avec Détecteur à Ionisation de Flamme. La mesure des concentrations a permis d'intégrer au calcul de la LC50 les éventuelles pertes du composé par évaporation. La LC50 a été calculée par transformation logit.

*Cet essai est conforme aux conditions recommandées par la Ligne Directrice 204 de l'OCDE. Il est donc considéré valide.*

La publication de Juhnke et Lüdemann (1978) rassemble des résultats de tests d'écotoxicité effectués sur *Leuciscus idus melanotus* pendant 48 h pour 200 substances. Les conditions sont statiques. L'étude ne décrit pas l'utilisation ou non d'un système clos, ni l'emploi d'un suivi analytique.

*Par manque d'information, il n'est pas possible de juger de la validité de ce résultat.*

---

<sup>49</sup> APHA (1971): American Public Health Association (1971). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association Inc., New York. Method N° 231.

L'essai de Lysak et al. (1972) sur *Oncorhynchus mykiss* a permis la détermination d'une LC0 (19 mg/l) et d'une LC100 (38 mg/l) au bout de 24 heures. La LC50 (24h) notée dans le tableau a été calculé par moyenne géométrique. Les poissons étaient âgés de 2 ans. Leur acclimatation a duré entre 10 et 12 jours. Le taux d'oxygène dissous moyen était de 8,4 mg/L ; les essais où cette teneur étaient passées sous la limite de 6,0 mg/l ont été écartés. La température, comprise entre 16 et 21,5 °C durant la préparation de ce test, n'a pas fluctué de plus de 1 °C lors de la phase de test. Les récipients d'essai étaient fermés.

*Cet essai est considéré valide avec restrictions du fait de sa durée insuffisante.*

Mayes et al. (1983) ont déterminé la LC50 (96h) pour *Pimephales promelas* sur trois stade de vie : larve, pré-adulte et juvénile qui est le stade le plus sensible. Nous conserverons donc cette valeur dans le tableau. Une procédure ASTM (1980) a été suivie. Les conditions (dureté : 96-125 mg/L CaCO<sub>3</sub>, pH : 7.2-8.5, température : 21-23°C) étaient statiques. Les poissons ont été acclimatés aux conditions d'expérience pendant 48 h. Chaque test consistait en 6 concentrations d'essai ainsi que d'un témoin. Il n'y a pas eu de suivi analytique. Les récipients d'essais étaient clos. La concentration en oxygène dissous a été inférieure à 40% de saturation. Les résultats pour les 3 groupes d'âges sont :

- Larves (10-15 j, 11.6 mg, 9.5 mm), LC<sub>50</sub> (96 h) = 12,7 (11,5-14,2) mg/L.
- Juveniles (30-35 j, 76.8 mg, 14.9 mm), LC<sub>50</sub> (96 h) = 10,6 (9,1-12,3) mg/L.
- Préadultes (65-94 j, 391 mg, 28 mm), LC<sub>50</sub> (96 h) = 13,2 (9,6-18,6) mg/L.

*Il semble qu'il n'y ait pas d'influence claire due à l'âge des individus. L'oxygène dissous a atteint une concentration inférieure à la limite fixée par l'OCDE (O<sub>2</sub> dissous > 60% de saturation). Cet essai n'est pas considéré valide.*

Wellens (1982) a comparé les sensibilités de *Brachydanio rerio* avec *Leuciscus melanotus idus* (étude réalisée par Juhnke & Lüdemann en 1978). Il a ainsi déterminé une LC50 de 96 h de 30,5 mg/l pour l'épichlorhydrine. Les conditions étaient statiques, un système clos a été utilisé. L'étude a suivi les recommandations du projet de ligne directrice de septembre 1980 de l'OCDE<sup>50</sup>. Un suivi de la teneur en oxygène dissous a été mis en place. Le pH est de 7,5 ± 0,3.

*En l'absence de suivi analytique, l'essai est considéré valide avec restrictions.*

#### Amphibiens :

L'essai de Fernandez et al., (1989) sur *Pleurodeles waltl* a porté sur l'étude des anomalies génétiques qu'une exposition à l'épichlorhydrine pouvait causer chez la salamandre. L'étude a duré 12 jours, mais le critère d'effet n'est pas habituel pour la détermination d'une PNEC aquatique.

*Cet essai est donné à titre indicatif.*

---

<sup>50</sup> OECD chemicals testing programme (Ecotoxicology Group). 2. Draft, Sept. 1980: Test Guideline for the assesment of acute toxicity to warmwaterfish

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues vertes	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	NOEC (8 jours)	5.4	3	Bringmann et Kühn, 1977a
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	ECr10 (72 h)	10.7	1	INERIS, 2006
Algues bleues	<i>Microcystis aeruginosa</i>	NOEC (8 jours)	6	3	Bringmann et Kühn, 1978a

### Algues :

Les conclusions de l'essai de Bringmann et Kühn (1977a) sur l'algue verte *Scenedesmus quadricauda* sont reprises dans plusieurs publications (Bringmann et Kühn, 1978b; Bringmann et Kühn, 1978a; Bringmann et Kühn, 1980). Les conditions de l'essai étaient : température =27°C, pH neutralisé, durée de l'essai=8 jours, 14 concentrations testées (dilutions de 2 en 2 à partir de la solution mère et 3 réplicats par concentration. Les tubes à essais étaient bouchés, permettant de limiter les pertes par volatilisation. Toutefois aucun suivi de la concentration effective de la substance dans le milieu n'a été mis en place. La biomasse algale finale a été mesurée par spectrométrie à 578 nm (mesure de l'extinction). Une EC3 (Toxische Grenzkonzentration), qui peut-être assimilée à une NOEC a été déterminée.

*La durée de l'essai est importante et il est peu probable que les algues se trouvaient encore en phase exponentielle de croissance telle que le définit la Ligne Directrice 201 de l'OCDE (multiplication cellulaire par un facteur 16 sur une durée de 3 jours). Le pic de croissance pour Scenedesmus quadricauda étant atteint avant 3 jours. Les solutions ont par ailleurs été préparées à partir d'une solution mère dont la concentration exacte n'a pas été mesurée. Enfin, il n'y a pas eu de suivi analytique. L'essai n'est pas considéré valide.*

L'essai de Bringmann et Kühn (1978a) sur l'algue bleue *Microcystis aeruginosa* est rapporté dans plusieurs sources (Bringmann & Kühn, 1976; Bringmann & Kühn, 1978b; Bringmann & Kühn, 1978a). Les conditions expérimentales étaient : une température de 27°C et un pH neutralisé (7,0). Les concentrations testées ont été obtenues par dilution de 2 en 2 à partir d'une solution mère. Deux réplicats ont été réalisés par concentration. Les tubes à essais étaient bouchés, permettant de limiter les pertes par volatilisation. Toutefois aucun suivi de la concentration effective de la substance dans le milieu n'a été mis en place. La biomasse algale finale a été mesurée par spectrométrie à 578 nm (mesure de l'extinction). Une EC3 (Toxische Grenzkonzentration), assimilable à une NOEC, a été déterminée.

*Comme pour le résultat précédent, la durée de l'essai est sans doute trop importante. Même si la croissance de Microcystis aeruginosa est plus lente que pour l'algue Scenedesmus quadricauda les conditions de croissance exponentielle ne sont probablement plus respectées. Comme précédemment, les solutions ont été préparées à partir d'une solution mère dont la concentration exacte n'a pas été mesurée, et il n'y a pas eu de suivi analytique. L'essai n'est pas considéré valide.*

INERIS, 2006 a également déterminé une donnée chronique pour les algues (cf. section 2.1). Le résultat est considéré comme valide.

## 3. DETERMINATION DE LA PNECAQUA

La plus faible donnée validée disponible est la LC50 (14j) pour *Poecilia reticulata* à 0.65 mg/L de Deneer et al., 1988. Cette donnée ne peut pas être considérée comme une valeur chronique, le temps d'exposition étant insuffisant. Mais elle ne peut pas être considérée non plus comme une valeur aiguë, et il est suggéré d'abaisser le facteur de sécurité de 1000 à 500 compte tenu

du fait que la LC50 a été mesurée après 14 jours au lieu des 96 heures habituellement recommandées.

La PNEC est donc proposée à  $0.65/500 = 0.0013$  mg/L soit:

$$\text{PNEC}_{\text{aqua}} = 1.3 \mu\text{g/L}$$

On signalera que l'épichlorhydrine est un carcinogène (INRS, 2000) : cette substance est avant tout problématique pour la santé humaine. La limite de qualité des eaux destinées à la consommation humaine est de 0.1 µg/L pour l'épichlorhydrine (Directive Européenne 98/83/CE, ce seuil de 0.1 µg/L a été transposé en Droit Français par le Décret 2001-1220 du 20 décembre 2001). Par ailleurs, l'OMS a défini une limite dans l'eau potable à 0.4 µg/L.

#### 4. BIBLIOGRAPHIE

Alabaster, J. S. (1969). "Survival of fish in 164 herbicides, insecticides, fungicides, wetting agents, and miscellaneous substances." *Int. Pest Control* 11(2): 29-35.

Alabaster, J. S. and F. S. H. Adams (1964). Development and use of a direct method of evaluation of toxicity in fish. *Proc. 2nd Int. Conf. Tokyo. A. W. P. Res. Oxford, Pergamon Press.*

Bridié, A. L., C. J. M. Wolff and M. Winter (1979). "The acute toxicity of some petrochemicals to goldfish." *Water Research* 13(7): 623-626.

Bringmann, G. and R. Kühn (1976). "Vergleichende Befunde der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Bakterien (*Pseudomonas putida*) und Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*)." *gwf-wasser/abwasser* 117: 410-414.

Bringmann, G. and R. Kühn (1977a). "Grenzwerte der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Bakterien (*Pseudomonas putida*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) im Zellvermehrungshemmtest." *Wasser-und Abwasser-forschung* 10(3/4): 87-98.

Bringmann, G. and R. Kühn (1978a). "Grenzwerte der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) im Zellvermehrungshemmtest." *Vom Wasser* 50: 45-60.

Bringmann, G. and R. Kühn (1978b). "Testing of substances for their toxicity threshold : Model organisms *Microcystis (Diplocystis) aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*." *Mitt. Internat. Verein. Limnol.* 21: 275-284.

Bringmann, G. and R. Kühn (1980). "Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae and protozoa in the cell multiplication inhibition test." *Water Research* 14(3): 231-241.

Bringmann, V. G. and R. Kuhn (1982). "Ergebnisse der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna* in einem weiterentwickelten standardisierten Testverfahren (Results of toxic action of water pollutants on *Daphnia magna* Straus tested by an improved standardized procedure)." *Z. Wasser Abwasser Forsch* 15(1): 1-6.

Bringmann, V. G. and R. Kühn (1977b). "Befunde der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna*." *Z.F. Wasser und Abwasser Forschung* 10(5): 161-166.

Dawson, G. W., A. L. Jennings, D. Drozdowski and E. Rider (1975). "The acute toxicity of 47 industrial chemicals to fresh and saltwater fishes." *Journal of Hazardous Materials* 1(4): 303-318.

Deneer, J. W., T. L. Sinnige, W. Seinen and J. L. M. Hermens (1987). "The acute toxicity of aldehydes to the guppy." *Aquatic Toxicology* 12: 185-192.

Deneer, J. W., T. L. Sinnige, W. Seinen and J. L. M. Hermens (1988). "A quantitative structure-activity relationship for the acute toxicity of some epoxy compounds to the guppy." *Aquatic Toxicology* 13(3): 195-204.

Fernandez, M., L. Gauthier and A. Jaylet (1989). "Use of Newt Larvae for In Vivo Genotoxicity Testing of Water: Results on 19 Compounds Evaluated by the Micronucleus Test." *Mutagenesis* 4(1): 17-26.

Freed, V. H., C. T. Chiou and R. Hague (1977). "Chemodynamics: Transport and behaviour of chemicals in the environment." *Nat. Tech. Inf. Serv.*(PB-273234).

Gersich, F., F. Blanchard, S. Applegath and C. Park (1986). "The Precision of Daphnid (*Daphnia magna* Straus, 1820) Static Acute Toxicity Tests." *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15(6): 741-749.

INERIS (2006). Détermination des CE50 pour trois substances chimiques sans PNEC (2-Amino-4-Chlorophenol ; 2-Chloro-p-Toluidine ; Epichlorohydrine). Rapport d'essai. 6 février 2006. INERIS-DRC-06-66026-ECOT-VVE/FGO-n° 06CR012.doc

INRS (2000). 1-Chloro-2,3-époxypropane-: fiche toxicologique n°187, INRS: 3.

IPCS-INCHEM. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations, International Programme on Chemical Safety. 2004. <http://www.inchem.org/search.html>

Juhnke, I. and D. Lüdemann (1978). "Ergebnisse der Untersuchung von 200 chemischen Verbindung auf akute Fischtoxizität mit dem Goldorfentest." *Zeitschrift Wasser-Abwasser Forschung* 11(5): 161-164.

Kondo, M., T. Nishimara, T. Shimamoto, T. Koshikawa, T. Ito and R. Sawamura (1988). "Biodegradation test of chemicals by cultivation methods." *Eisi Kagayaku-Japanese Journal of Toxicology and Environmental health* 34: 188-195.

Lysak, A., J. Marcinek and P. Y. T. R. Source: (1972). "Multiple Toxic Effect of Simultaneous Action of Some Chemical Substances on Fish." *Rocz.Nauk Roln.Ser.H Rybactwo* 94(3): 53-63.

Mayes, M. A., H. C. Alexander and D. C. Dill (1983). "A study to assess the influence of age on the response of fathead minnows in static acute toxicity tests." *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 31: 139-147.

Santodonato, J., S. S. Lande, P. H. Howard, D. O and D. Bogyo (1980). Investigation of selected potential environmental contaminants: Epichlorohydrin and epibromohydrin. Washington, D.C., Office of Toxic Substances, United States Environmental protection Agency.

Wellens, H. (1982). "Vergleich der Empfindlichkeit von *Brachydanio rerio* und *Leuciscus idus* bei der Untersuchung der Fischtoxizität von chemischen Verbindungen und Abwässern." *Z-Wasser-Abwasser-Forsch.* 15(2): 49-52.

## 2,4,5-T – n°CAS : 93-76-5

Le 2,4,5-T (acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique, pKa = 2.88) ainsi que ses esters et ses sels ont été utilisés comme herbicides ou entraient dans la composition d'herbicides employés dans les sites industriels, les dépôts de bois et les terrains vagues. Ils entraient également dans la composition de désherbants sélectifs pour les pâtures, les rizières, les pelouses et pour des usages aquatiques. Ce produit n'est plus utilisé en Europe où il est interdit depuis juillet 2003 (radiation de l'annexe 1 de la directive 91/414/CEE). En effet, une des impuretés de l'acide 2,4,5-T, est la tetrachlorodioxine (TCDD), considérée comme la plus toxique des dioxines (dioxine de Seveso). Pour la directive 76/464/CEE, il est nécessaire de déterminer une PNEC aquatique générale de l'acide, des sels et esters.

### 1. CARACTERISTIQUES

#### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques de l'acide et d'un des esters du 2,4,5-T (le butoxyéthanol ester) sont présentées ci-dessous :

##### Acide

Formule brute :	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>3</sub>
Etat physique :	solide cristallisé
Poids moléculaire :	255.49 g/mol (HSDB 2000)
Densité :	1.8 g/cm <sup>3</sup> (IPCS-INCHEM 1996)
Point de fusion :	153 °C (HSDB 2000) 154-155 °C (Wssa 1983) 158°C (Verschueren 2001)
Point d'ébullition :	se décompose au-dessus de 200 °C (Wssa 1983)
Pression de vapeur :	< 1.10 <sup>-5</sup> Pa à 20°C (HSDB 2000) 0 à 0.0063 à 25°C (MacKay et al. 2000)
Solubilité dans l'eau :	268 mg/L à 25°C (HSDB 2000) 278 mg/L à 25°C (Verschueren 2001) Soluble dans l'acétone.
Log Kow :	3.13 (Hansch and Leo 1985) 4 (HSDB 2000)
Constante de Henry :	< 0.95×10 <sup>-5</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (HSDB 2000) 8.8×10 <sup>-4</sup> Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (SRC 1988)
Koc :	86 (sols sableux) à 280 (sols argileux) (HSDB 2000) 48.63* (PCKOCWIN v.1.66, US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)

\*valeurs estimées

D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, l'acide 2,4,5-T peut être considéré comme une substance soluble et non volatile. Par ailleurs, les différentes valeurs du Koc suggèrent une adsorption faible à modérée du 2,4,5-T sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau. Cette adsorption est d'autant plus importante pour les substrats à forte teneur en matière organique, du fait d'une forte affinité du 2,4,5-T pour les substances humiques (HSDB 2000).

### Butoxyéthanol ester - n°CAS : 2545-59-7

Formule brute :	$C_{14}H_{17}Cl_3O_4$
Poids moléculaire :	355.66 g/mol
Point de fusion :	137.38°C* (MPBPWIN v.1.41, US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Point d'ébullition :	385.69°C* (MPBPWIN v.1.41, US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
Pression de vapeur :	0.0002 Pa à 25°C (HSDB 2000)
Solubilité dans l'eau :	insoluble (Worthing and Walker 1987)
Log Kow :	4.75* (KOWWIN v.1.67, US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
	5.32* (HSDB 2000)
Constante de Henry :	0.008* Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> (HSDB 2000)
Koc :	557.3* (PCKOCWIN v.1.66, US-EPA and Syracuse Research Corporation 2004)
	600* à 130000* (HSDB 2000)

\*valeurs estimées

Cet ester du 2,4,5-T peut être considéré comme une substance insoluble et très faiblement volatile. Dans HSDB 2000 il est rapporté une solubilité modérée (10 mg/L, Verschueren 1983) pour l'isooctyl ester du 2,4,5-T (n° CAS : 25168-15-4). Le n-butyl ester (n°CAS : 93-79-8) est également considéré comme une substance insoluble. Par ailleurs, le n-butyl ester est l'un des esters les plus volatiles du 2,4,5-T avec une constante de Henry calculée à 0.57 Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup> : sa demi-vie par volatilisation a été estimée à 11.8 jours dans un modèle de rivière (HSDB 2000).

## **1.2 Persistance**

### Acide

La dégradation de l'acide 2,4,5-T par hydrolyse n'est pas significative (MacKay et al. 2000 ; HSDB 2000).

La photolyse est le mode de dégradation le plus significatif pour l'acide : sous des conditions environnementales estivales correspondantes aux zones de latitude 40° et proche de la surface de l'eau, la demi-vie de l'acide 2,4,5-T par photolyse a été estimée à 15 jours (Skurlatov et al. 1983). La photodécomposition de la substance peut être favorisée par adsorption sur les molécules humiques : les substances humiques présentes dans l'eau à une concentration excédant les 15 mg/L, augmentent la photosensibilité du 2,4,5-T et des photoréactions peuvent alors contribuer de façon majoritaire à sa dégradation en milieu aquatique. Les principaux produits de photodégradation (à pH 10) sont le 2,4,5-trichlorophénol et l'acide 2-hydroxy-4,5-dichlorophenoxyacétique (HSDB 2000).

Des expériences de biodégradation en sol tropical sur 4 mois d'incubation ont montré que 5 à 35 % du 2,4,5-T était biodégradé dans des sols non stérilisés, alors que seulement 1 % était biodégradé lorsque les sols étaient préalablement stérilisés (HSDB 2000). Des taux de biodégradation de 65 à 69 % ont été observés après 49 jours dans des sols non stérilisés contenant 1 mg/L d'acide 2,4,5-T ; une expérience similaire avec des concentrations initiales en 2,4,5-T de 15 mg/L ont permis d'atteindre des taux de biodégradation de 75 à 96 % après 168 jours (Byast and Hance 1975 in HSDB 2000). La biodégradation de l'acide 2,4,5-T en conditions aérobies conduit à la formation du 2,4,5-trichlorophénol, premier produit de

dégradation. La biodégradation anaérobie est beaucoup plus lente que la biodégradation aérobie, et conduit à la formation de substances telles que les mono- et di-chlorophénols et l'acide 2,5-dichlorophénoxyacétique (HSDB 2000).

#### Esters du 2,4,5-T (HSDB 2000)

L'hydrolyse est la principale voie de dégradation des esters du 2,4,5-T. Leur taux de dégradation est fonction du pH et de la quantité de substances humiques présentes dans l'eau. Pour le butoxyéthanol ester, des demi-vies d'hydrolyse ont été estimées à 210, 21 et 2.1 heures à pH 7, 8 et 9 respectivement. Les demi-vies d'hydrolyse de l'isobutyl ester et du n-butyl ester à pH 7.4 – 7.5 et à 20 °C sont de 10.2 jours 7.5 jours respectivement.

La photodégradation et la biodégradation des esters ne sont pas considérées comme significatives et/ou n'ont pas été étudiées.

### **1.3 Bioaccumulation**

#### Acide

Des BCFs de 23 - 25 pour l'acide 2,4,5-T ont été mesurés au cours d'un test statique sur poissons (Garten and Trabalka 1983 ; Kenaga and Goring 1980). En système dynamique, Kenaga and Goring 1980 ont déterminé un BCF de 43. Sur la base de ces résultats, la bioconcentration de l'acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique chez les organismes aquatiques ne semble pas significative (HSDB 2000).

#### Esters du 2,4,5-T (HSDB 2000)

Un BCF de 6500 a été calculé pour le butoxyéthanol ester à partir du Log Kow = 5.32. Cette valeur suggère un fort potentiel de bioconcentration de cet ester du 2,4,5-T chez les organismes aquatiques. Un BCF de 2700 a été calculé pour le n-butyl ester (Lyman et al. 1982) à partir d'un Log Kow = 4.8.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Acide :

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Micro-organismes</b>	<i>Colpidium campylum</i>	LOEC (43 h)	>10	3	Dive et al. 1980
<b>Algues</b>	<i>Isochrysis galbana*</i>	EC <sub>50</sub> (1.5 h) physiologie	50	4	Walsh 1972
	<i>Phaeodactylum tricornutum*</i>	EC <sub>50</sub> (1.5 h) physiologie	75	4	Walsh 1972
	<i>Chlorococcales</i>	EC <sub>50</sub> (24 h) physiologie	120	4	Krebs 1991
	<i>Chlorococcum sp.* et Dunaliella tertiolecta*</i>	EC <sub>50</sub> (1.5 h) physiologie	150	4	Walsh 1972
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EC <sub>60</sub> (72 h)	196	2	Huang and Gloyna 1968
<b>Rotifères</b>	<i>Keratella cochlearis</i>	LC <sub>50</sub> (72 h)	0.013	4	Vancil 1976
	<i>Brachionus angularis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	114.3	4	Vancil 1976
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Daphnia pulex</i>	LC <sub>50</sub> (3 h)	0.73	4	Nishiuchi and Hashimoto 1967
	<i>Moina macrocopa</i>	LC <sub>50</sub> (3 h)	0.8	4	Nishiuchi and Hashimoto 1967
	<i>Penaeus aztecus *</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	> 1	3	Butler 1965
	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	5	3	Knappek and Lakota 1974
	<i>Americanysis bahia*</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	20	4	Carr 1987
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	> 200	3	Oris et al. 1991
<b>Poissons</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.15	2	Yokote et al. 1976
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.5	4	Bohmont 1967
	<i>Carassius auratus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.59	4	Nishiuchi and Hashimoto 1967
	<i>Cyprinus carpio</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.87	4	Nishiuchi and Hashimoto 1967
	<i>Oryzias latipes</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1	4	Nishiuchi and Hashimoto 1967
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1.3	4	Bohmont 1967
	<i>Carassius sp.</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	2.9	3	Knappek and Lakota 1974
	<i>Lebistes reticulatus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	8	4	Bodenstein and Ullerbastgen 1970
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	8.7	2	Yokote et al. 1976

	<i>Gambusia affinis</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	10	3	Fabacher and Chambers 1974
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	10	4	Hughes and Davis 1964
	<i>Ictalurus punctatus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	> 10	3	Mc Corkle et al. 1977
	<i>Morone saxatilis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	14.6	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Morone americana</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	16.4	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Fundulus diaphanus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	17.4	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Lepomis gibbosus</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	20	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Poecilia reticulata</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	28.1	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Cyprinus carpio</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	41.1	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Anguilla rostrata</i> ,	LC <sub>50</sub> (96 h)	43.7	2	Rehwoldt et al. 1977
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	350	4	Hartley and Kidd 1987
	<i>Leuciscus idus melanotus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	525	4	Juhnke and Lüdemann 1978
	<i>Gambusia affinis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	1600	3	Johnson 1978

\*espèces marines

#### Esters du 2,4,5-T :

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Rotifères</b>	<i>Keratella cochlearis</i>	LC <sub>50</sub> (72 h)	0.7	4	Vancil 1976
	<i>Brachionus angularis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	55.1	4	Vancil 1976
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Gammarus fasciatus</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	0.12 (0.08 – 0.18)	2	Johnson and Finley 1980
	<i>Penaes aztecus</i> *	EC <sub>50</sub> (48 h)	> 1	3	Butler 1965
	<i>Palaemonetes kadiakensis</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	2.7 (1.9 – 3.9)	2	Johnson and Finley 1980
	<i>Asellus brevicaudus</i>	EC <sub>50</sub> (48 h)	> 3.2	3	Johnson and Finley 1980
<b>Mollusques</b>	<i>Crassostrea virginica</i> *	EC <sub>50</sub> (96 h)	0.14	3	Butler 1965
	<i>Crassostrea virginica</i> *	EC <sub>50</sub> (96 h)	0.19	4	Lowe et al. 1970
<b>Poissons</b>	<i>Leiostomus xanthurus</i> *	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.32	3	Butler 1965
	<i>Lepomis microlophus</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	0.53	4	Mayer and Ellersieck 1986
	<i>Oncorhynchus mason</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.6	4	Matida et al. 1976
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	0.93	2	Yokote et al. 1976
	<i>Rasbora heteromorpha</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1	2	Alabaster 1969

	<i>Tribolodon hakonensis</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	1.3	4	Matida et al. 1976
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1.4	2	Hughes and Davis 1963
	<i>Asellus hilgendorfi</i>	LC <sub>50</sub> (96 h)	1.6	4	Matida et al. 1976
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	1.7	4	Davis and Hughes 1963
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	9.5	4	Hartley and Kidd 1983
	<i>Gambusia affinis</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	10	3	Fabacher and Chambers 1974
	<i>Lepomis macrochirus</i>	LC <sub>50</sub> (24 h)	12	4	Hartley and Kidd 1983
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC <sub>100</sub> (48 h)	25	4	Lysak et al. 1972

\*espèce marine

#### Micro-organismes :

Dive et al. 1980 ont testé des ciliés *Colpidium campylum*. Ils ont été incubés pendant 43 h en présence de diverses concentrations de 2,4,5-T comprises entre 1 et 10 mg/L, en 5 réplicats et à 20°C. L'acétone a été utilisée comme solvant. Un contrôle par rapport à l'acétone a été réalisé. L'apport alimentaire a été fourni par une culture bactérienne. Aucune des concentrations testées n'a entraîné d'effets significatifs. Les auteurs ont donc déterminé que la concentration minimale induisant une inhibition de la prolifération des organismes (assimilable à une LOEC) était supérieure à 10 mg/L.

*Ce résultat, ne pouvant pas être utilisé pour le calcul d'une PNEC aquatique, n'est donné qu'à titre indicatif.*

#### Algues :

Huang and Gloyna 1968 ont étudié la toxicité du 2,4,5-T sur la synthèse de chlorophylle chez *Chlorella pyrenoidosa* en système fermé. Les cultures algales ont été exposées au toxique pendant 72 heures, à température constante (25 ± 0.5 °C), illumination en continue (10 tubes fluorescents de 20 W) et avec des apports nutritionnels contrôlés. Des groupes témoins ont été réalisés et les concentrations d'essai ont été testées en 3 réplicats. Le taux de chlorophylle a été mesuré toutes les 24 heures à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations d'essai ont été mesurées en fin de test et la concentration en O<sub>2</sub> dissous a été contrôlée durant le test. Les résultats obtenus sont représentés graphiquement. Une diminution d'environ 60 % du taux de chlorophylle a été mesurée au bout de 72 heures pour une concentration en 2,4,5-T de 196 mg/L, soit une EC<sub>60</sub> (72h) = 196 mg/L.

*Le taux de chlorophylle mesuré par spectrophotométrie peut être considéré comme un indicateur de la densité algale. Ce résultat est donc jugé valide avec restrictions.*

Dans la base de données AQUIRE sont citées des données issues de Walsh 1972 et de Krebs 1991. Il est rapporté que les tests ont été réalisés en système statique et que le critère d'effet portait sur la physiologie des algues.

*Puisque les publications originales n'ont pu être consultées, il n'est pas possible de juger de la validité des essais et les valeurs obtenues ne sont données qu'à titre indicatif.*

#### Rotifères :

Les essais de Vancil 1976 sur l'acide et les esters du 2,4,5-T sont cités dans la base de données AQUIRE mais le rapport original n'a pu être consulté.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité des essais et les valeurs obtenues ne sont données qu'à titre indicatif.*

#### Micro-crustacés :

Butler 1965 a testé la toxicité du 2,4,5-T et d'un ester du 2,4,5-T (le polyglycol butyléther ester) sur une espèce estuarienne, *Penaeus aztecus*. L'essai a été réalisé dans des conditions de milieu dynamiques et en eau salée (17 à 27‰). La température était de 28°C. 4 concentrations, au minimum, ont été testées. L'acétone a été utilisée comme solvant. Le critère d'effet mesuré était la mortalité ou la perte d'équilibre. Après 48 heures d'exposition à 1 mg/L, 20 % de mortalité a été observée pour l'ester du 2,4,5-T et aucune mortalité pour le 2,4,5-T.

*L'essai est très peu renseigné avec notamment l'absence d'information sur le nombre d'organismes testés, l'existence de groupes témoins avec et sans solvant, l'existence de réplicats et la concentration en oxygène dissous. De plus, il ne permet pas de déterminer significativement une valeur de EC<sub>50</sub>. Cet essai n'est donc pas considéré comme valide.*

Les essais de Carr 1987 et de Nishiuchi and Hashimoto 1967 sont cités dans la base de données AQUIRE mais les publications originales n'ont pu être consultées.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité des essais et les valeurs obtenues ne sont données qu'à titre indicatif.*

Knapek and Lakota 1974 ont déterminé une LC<sub>50</sub> sur 96 h égale à 5 mg/L dans le cadre d'un essai sur *Daphnia magna*.

*Cette publication est un compte rendu de colloque. Aucune information n'est disponible sur le protocole d'essai. En particulier, les éléments suivants ne sont pas spécifiés : paramètres physico-chimiques du milieu d'essai, nombre d'organismes et concentrations testés, méthode statistique employée. Ce résultat n'est donc jugé exploitable.*

Les essais de Johnson and Finley 1980 sur la toxicité aiguë d'un ester du 2,4,5-T (le butoxyéthanol ester) sont repris dans Mayer and Ellersieck 1986. Ils ont été réalisés en milieu statique (eau reconstituée déionisée) non aéré, sur des micro-crustacés matures : *Asellus brevicaudus* (isopode), *Gammarus fasciatus* (amphipode) et *Palaemonetes kadiakensis* (décapode). La température du milieu était de 15 ± 1°C pour les essais sur *Asellus brevicaudus* et *Gammarus fasciatus* et de 21 ± 1°C pour le dernier essai. L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration n'excédant pas 0.5 mL/L. Le pH a été maintenu de 7.2 à 7.5, l'alcalinité de 30 à 35 mg/L et la dureté de l'eau de 40 à 50 mg CaCO<sub>3</sub>/L sauf pour les essais sur *Asellus brevicaudus* et *Palaemonetes kadiakensis* où la dureté était de 272 mg CaCO<sub>3</sub>/L. Les organismes ont été acclimatés à l'eau de dilution sur une période de 4 à 6 heures. Aucune alimentation n'a été fournie durant le test. Un minimum de 10 organismes a été utilisé pour chaque concentration d'essai. Au moins 6 concentrations d'essai ont été testées en duplicata sur 48 heures. Le critère d'effet était l'immobilité et il a été mesuré au bout de 24 et 48 heures. Les EC<sub>50</sub> (48 h) obtenues sont :

- pour *Asellus brevicaudus* : EC<sub>50</sub> (48 h) > 3.2 mg/L
- pour *Gammarus fasciatus* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 0.12 (0.08 – 0.18) mg/L
- pour *Palaemonetes kadiakensis* : EC<sub>50</sub> (48 h) = 2.7 (1.9 – 3.9) mg/L

*Le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant mis à part l'absence d'informations sur la teneur en oxygène dissous et sur l'existence de témoins avec solvant. Le pourcentage d'immobilisation obtenu dans le groupe témoin n'est également pas indiqué. Par ailleurs, la période d'acclimatation paraît courte par rapport à celle recommandée par la ligne directrice 202 de l'OCDE (min de 48 heures pour *Daphnia magna*). De plus, l'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des*

*normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Compte-tenu de ces remarques et des espèces utilisés, les essais réalisés sur Gammarus fasciatus et sur Palaemonetes kadiakensis sont jugés valides avec restrictions. La EC<sub>50</sub> définie pour Asellus brevicaudus ne faisant pas partie de l'intervalle des concentrations testées, n'est donnée qu'à titre indicatif.*

L'essai aigu de Oris et al. 1991 sur *Ceriodaphnia dubia* (individus âgés de moins de 12 h) a été réalisé dans le cadre d'une étude de la toxicité du 2,4,5-T à long terme (cf. partie 2.2). La pureté de la substance était > 99% et sa dissolution a été facilitée par l'ajout de méthanol (< 0.1%). L'essai a été réalisé sur 48 heures en système statique. 4 concentrations ont été testées et un groupe témoin a également été réalisé par rapport au solvant. 10 animaux répartis individuellement ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle, dans des récipients d'essai de 30 mL contenant 15 mL d'eau reconstituée (température = 25 ± 1°C, pH = 8.18 ± 0.04, dureté = 57.07 ± 4.14 mg CaCO<sub>3</sub>/L, alcalinité = 81 ± 4.22 mg CaCO<sub>3</sub>/L). Aucune alimentation n'a été fournie aux organismes. Au bout de 48 heures, la LC<sub>50</sub> a été déterminée supérieure à 200 mg/L correspondant à la plus forte concentration testée.

*Le protocole ne permet pas de déterminer une valeur significative de LC<sub>50</sub>, celle-ci étant supérieure à la gamme des concentrations testées. Le résultat obtenu n'est donc pas considéré valide.*

#### Mollusques :

Butler 1965 a testé la toxicité d'un ester du 2,4,5-T (le polyglycol butyléther ester) sur la croissance coquillière de *Crassostrea virginica*. L'essai a été réalisé dans des conditions de milieu dynamiques et en eau salée (17 à 27‰). La température était de 13°C. Un minimum de 4 concentrations ont été testées et un contrôle a été réalisé. L'acétone a été utilisée comme solvant. La EC<sub>50</sub> (96 h) = 0.14 mg/L a été déterminée graphiquement.

*L'essai est très peu renseigné avec notamment l'absence d'informations sur le nombre d'organismes testés, l'existence d'un contrôle solvant, la croissance obtenue dans le groupe témoin et la concentration en oxygène dissous. De plus, l'existence de réplicats et d'un traitement statistique des résultats ne sont pas indiqués. Cet essai n'est donc pas considéré comme valide.*

L'essai de Lowe et al. 1970 sur *Crassostrea virginica*, est cité dans la base de données AQUIRE mais la publication originale n'a pu être consultée.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité de l'essai qui n'est cité qu'à titre indicatif.*

#### Poissons:

Alabaster 1969 a mené une étude sur *Rasbora heteromorpha* en système dynamique : un renouvellement automatique de 100 mL des solutions d'essai a eu lieu toutes les 10 minutes. L'étude a porté sur le butoxyéthanol ester du 2,4,5-T (n° CAS : 2545-59-7). Pour chaque concentration, dix poissons de 1.3 à 3 cm de long ont été placés dans des récipients de 500 mL. Les conditions du milieu d'essai étaient : dureté de 20 mg CaCO<sub>3</sub>/L, pH de 7.2, température de 20 °C. Durant 7 jours précédant l'essai, les poissons ont été gardés dans une eau de qualité identique à celle utilisée dans l'essai. Au besoin, la dissolution a été facilitée par l'ajout d'acétone. Une LC<sub>50</sub> (48 h) = 1 mg/L a été déterminée par extrapolation graphique.

*L'étude ne fait pas mention de certains paramètres tels que l'existence de groupes témoins, la mortalité chez les témoins, ou encore la concentration en oxygène dissous dans le milieu. Toutefois, le milieu étant renouvelé en continu, on peut s'attendre à ce que la concentration en substance soit maintenue et que la teneur en oxygène dissous soit suffisante. Compte-tenu de ces remarques, l'étude est jugée valide avec restriction.*

Butler 1965 a testé la toxicité d'un ester du 2,4,5-T (le polyglycol butyléther ester) sur plusieurs organismes marins (essais décrits plus haut) dont *Leiostomus xanthurus* (juvéniles).

L'essai a été réalisé dans des conditions de milieu dynamiques et en eau salée (17 à 27‰). La température était de 16°C. 4 concentrations au minimum ont été testées. L'acétone a été utilisée comme solvant. La LC<sub>50</sub> (48 h) = 0.32 mg/L a été déterminée graphiquement.

*L'essai est très peu renseigné avec en particulier l'absence d'informations sur le nombre d'organismes testés, sur l'existence de groupes témoins avec et sans solvant et sur la concentration en oxygène dissous, la présence de réplicats. De plus, la LC50 a été déterminée graphiquement. Ce résultat ne sera pas retenu.*

Les essais de Bodenstern and Ullerbastgen 1970 ; Bohmont 1967; Hartley and Kidd 1983; Hartley and Kidd 1987 ; Hughes and Davis 1964 sont cités sur HSDB 2000 et ceux de Davis and Hughes 1963, Lysak et al. 1972, Matida et al. 1976 et Nishiuchi and Hashimoto 1967 sont cités dans la base de données AQUIRE. Pour l'ensemble de ces essais, les publications originales n'ont pu être consultées.

*Il n'est donc pas possible de juger de la validité des essais et les valeurs obtenues ne sont données qu'à titre indicatif.*

Fabacher and Chambers 1974 ont testé la toxicité de l'acide et du butoxyéthanol ester sur *Gambusia affinis* selon le même protocole expérimental. Les poissons sont restés en laboratoire 48 heures avant le début des tests. 12 poissons ont été exposés pendant 24 heures à 10 mg/L de toxique dans 6 L d'eau déchlorée. La température moyenne du milieu était de 21 °C. Au bout de 24 heures, 50 à 100 % de mortalité a été obtenue pour les deux substances testées : une LC<sub>50</sub> (24 h) = 10 mg/L a été déterminée.

*L'essai est très peu renseigné et des informations cruciales sont manquantes notamment sur l'existence de groupes témoins, les soins apportés aux poissons et la concentration en oxygène dissous. Par ailleurs, un certain nombre de paramètres importants ne sont pas conformes à ceux préconisés par la ligne directrice 203 de l'OCDE : la durée de l'essai (devrait être de 96h), l'absence de réplicats, la période d'acclimatation des poissons (un minimum de 7 jours est recommandé) et le nombre de concentrations (5 normalement). L'essai est donc considéré comme non valide.*

Hughes and Davis 1963 ont testé la toxicité de plusieurs esters du 2,4,5,-T sur *Lepomis macrochirus* (2.5 – 7.6 cm). Les essais ont été réalisés en système statique à 25 ± 1°C et le milieu a été aéré. Des conditions de lumière naturelles et artificielles (fournies par des tubes fluorescents) ont été utilisées. Le milieu d'essai a été confectionné à partir d'eau douce naturelle (pH : 6.9, alcalinité : 40 mg CaCO<sub>3</sub>/L, dureté : 29 mg CaCO<sub>3</sub>/L, turbidité : 32 mg/L, concentration en O<sub>2</sub> dissous initiale : 5 mg/L). Une période d'acclimatation de 48 heures au minimum a été effectuée. 50 poissons, répartis en 5 groupes de 10 individus dans 25 L de milieu, ont été utilisés pour chaque concentration d'essai. Les LC<sub>50</sub> déterminées après 48 heures d'exposition aux différents toxiques étaient :

- pour le butoxyéthanol ester : LC<sub>50</sub> (48 h) = 1.4 mg/L
- pour le propylène glycol butyléther ester : LC<sub>50</sub> (48 h) = 17 mg/L
- pour l'isooctyl ester : LC<sub>50</sub> (48 h) = 10.4 mg/L,  
LC<sub>50</sub> (48 h) = 26 mg/L et  
LC<sub>50</sub> (48 h) = 31mg/L

Seule la plus faible valeur a été reportée dans le tableau, soit 1.4 mg/L.

*La qualité du milieu est bien renseignée et des précautions ont été prises pour maintenir une concentration en O<sub>2</sub> dissous proche de sa valeur de saturation. Néanmoins, certaines informations sont manquantes tels que l'existence d'un groupe témoin, la mortalité obtenue dans ce témoin, la valeur et le nombre des concentrations testées ou encoure le taux de charge. Par ailleurs, la longueur des poissons est supérieure à celle recommandée par la ligne directrice 203 de l'OCDE (2 ± 1 cm). Compte-tenu de ces remarques et de la courte durée de l'essai, l'essai est jugé valide avec restrictions.*

L'essai de Johnson 1978 sur la toxicité aiguë de l'acide 2,4,5-T vis-à-vis de *Gambusia affinis* a été réalisé dans des conditions de milieu statiques (à 20 – 21°C) et sans aération. Les poissons sont restés en laboratoire 24 heures avant le début de l'essai. 5 à 6 concentrations ont été testées en duplicat et des contrôles ont également été effectués. 20 poissons ont été utilisés par concentration d'essai, soit 10 poissons par récipient d'essai de 2 L. Avant l'ajout du toxique, une période d'acclimatation de 2 heures a été effectuée. La mortalité a été enregistrée après 24, 48 et 96 heures d'exposition et les poissons morts ont été enlevés après chaque enregistrement. Les LC<sub>50</sub> sur 24 h, 48 h et 96 h ont été déterminées à 2500, 2400 et 1600 mg/L respectivement.

*L'étude ne fait pas mention de certains paramètres importants tels que la mortalité obtenue chez les témoins, les caractéristiques de l'eau de dilution, la concentration en oxygène dissous dans le milieu, la valeur des concentrations testées ou encore les soins apportés aux poissons (alimentation). La période d'acclimatation paraît très courte par rapport à celle recommandée par la ligne directrice 203 de l'OCDE (7 jours au minimum). Par ailleurs, les concentrations testées sont bien supérieures à limite de solubilité du 2,4,5-T et il n'est pas précisé si un solvant a été utilisé. L'essai est donc jugé invalide.*

Juhnke and Lüdemann 1978 ont déterminé pour l'acide une LC<sub>50</sub> (48 h) = 525 mg/L sur *Leuciscus idus melanotus*.

*Cette publication n'a pas pu être vérifiée. Il n'est donc pas possible de juger de la validité de l'essai.*

Knapek and Lakota 1974 ont déterminé pour l'acide une LC<sub>50</sub> (96 h) de 2.9 mg/L sur *Carassius sp.*

*Cette publication correspond à un compte rendu d'un colloque. Aucune information n'est disponible sur le protocole d'essai. En particulier, les éléments suivants ne sont pas spécifiés : paramètres physico-chimiques du milieu d'essai, nombre d'organismes et concentrations testés, méthode statistique employée. Ce résultat ne sera donc pas utilisé.*

L'essai de Mc Corkle et al. 1977 sur la toxicité de l'acide 2,4,5-T vis-à-vis de *Uctularus punctatus* (1 an, 14 g, 12 cm de long) a été réalisé dans des conditions statiques (eau déchlorée, température : 20-21°C, dureté de l'eau : 22 mg/L, alcalinité : 80 mg/L, pH : 8.2). Des aquariums de 76 L ont été utilisés avec 5 poissons par aquarium. Deux concentrations (1 et 10 mg/L) ont été testées sur 48 heures. Au bout de 48 heures d'exposition au 2,4,5-T la mortalité enregistrée n'a pas dépassé 10%, soit : LC<sub>50</sub> (48 h) > 10 mg/L.

*Des informations cruciales sont manquantes, notamment : la concentration en oxygène dissous, l'existence de groupes témoins et la mortalité obtenue dans ce groupe. Par ailleurs, le choix des concentrations testées n'est pas pertinent pour ce test de toxicité aiguë. En effet, les deux concentrations ne permettent pas de déterminer la valeur de la LC<sub>50</sub>. Par conséquent, ce résultat ne sera pas retenu.*

L'essai rapporté par Mayer and Ellersieck 1986 sur la toxicité aiguë du butoxyéthanol ester vis-à-vis de *Lepomis microlophus* n'est pas cité dans Johnson and Finley 1980 à la différence des essais réalisés sur les micro-crustacés (voir plus haut).

*La publication originale n'a pu être consultée, il n'a donc pas été possible de juger de la validité de l'essai et la LC<sub>50</sub> sur 24 heures égale à 0.53 (0.456 – 0.615) mg/L n'est donnée qu'à titre indicatif.*

Rehwoldt et al. 1977 ont réalisé des essais aigus sur plusieurs espèces de poissons d'eau douce : *Morone saxatilis*, *Fundulus diaphanus*, *Lepomis gibbosus*, *Morone americana*, *Anguilla rostrata*, *Cyprinus carpio*, et *Poecilia reticulata*. Ces essais sont cités dans le rapport RIVM 1997. Le protocole expérimental est celui décrit dans Rehwoldt et al. 1971 avec quelques modifications

(Rehwoldt et al. 1972). Les poissons sont restés en laboratoire 24 heures avant le début des essais. 10 poissons au minimum ont été utilisés par concentration d'essai et pour le groupe témoin. Le pH, la température et l'alcalinité de l'eau ont été contrôlés au cours des tests. La température a été maintenue à 20°C et un système d'aération a permis d'assurer une concentration en O<sub>2</sub> dissous de 6 mg/L. Le pH était de 7.2 et la dureté de l'eau de 50 mg CaCO<sub>3</sub>/L. La mortalité a été enregistrée après 24, 48 et 96 heures. Des TL<sub>m</sub> (équivalant à des LC<sub>50</sub>) sur 96 h allant de 14.6 mg/L chez *Morone saxatilis* à 43.7 mg/L chez *Anguilla rostrata* ont été déterminées à partir des concentrations nominales.

*Le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant mis à part l'absence de certaines informations comme la mortalité obtenue chez les témoins, la valeur des concentrations testées, l'existence de réplicats ou encore les soins apportés aux poissons (alimentation). La concentration en O<sub>2</sub> dissous est restée supérieure à 60% de la valeur de saturation en air et un suivi analytique du milieu d'essai a été effectué. Par conséquent, ces essais sont considérés valides avec restrictions.*

Les essais de Yokote et al. 1976 sur la toxicité aiguë du 2,4,5-T et d'un produit commercial composé de butoxyéthanol ester (« weedon ») ont été réalisés selon la méthode de Doudoroff et al. 1951 en conditions semi-statiques (renouvellement quotidien). Deux solutions de 2,4,5-T ont été testées : du 2,4,5-T dissous avec de l'acétone (2,4,5-T\*) et une émulsion de 2,4,5-T et de Pagnol-1000 (2,4,5-T\*\*). et le pH était de 7- 8. Le poids et la taille de l'espèce utilisée, *Oncorhynchus mykiss*, était de 2.6 g et 6.1 cm pour le 2,4,5-T\*, de 2.9 g et 6.2 cm pour 2,4,5-T\*\* et de 6.8 g et 8.3 cm pour l'ester. La concentration en O<sub>2</sub> dissous s'est échelonnée de 9.3 à 3.5 mg/L dans l'essai sur le 2,4,5-T\*\* (température : 16.7 ± 0.4), de 9.1 à 3.7 dans l'essai sur le 2,4,5-T\* (température : 16.6 ± 0.3) et de 9.3 à 3.1 mg/L dans l'essai sur l'ester (température : 16.9 ± 0.4). Les LC<sub>50</sub> à 96 heures ont été déterminées à 8.7 mg/L pour le 2,4,5-T\*, à 0.15 mg/L pour le 2,4,5-T\*\* et à 0.93 mg/L pour l'ester.

*Selon la ligne directrice 203 de l'OCDE, la concentration en oxygène dissous doit rester supérieure à 60% de la valeur de saturation en air pendant toute la durée de l'essai, ce qui n'a pas été respecté. Aucune information n'est disponible sur les témoins. Ces essais sont considérés valides avec restrictions.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

### Acide

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus obliquus</i>	NOEC (72 h)	2	2	Palmer and Maloney 1955
	<i>Chlorella variegata</i>	NOEC (72 h)	2	2	
	<i>Chlorococcales sp.</i>	EC <sub>10</sub> (24 h)	32	4	Krebs 1991
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	NOEC (8 j.)	52	2	Bringmann and Kühn 1978b
	<i>Chlamydomonas eugametos</i> , <i>Chlorella pyrenoidosa</i> et <i>Scenedesmus quadricauda</i>	NOEC (96 h)	200	2	Vance and Smith 1969
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	NOEC (8 j.)	220	3	Bringmann and Kühn 1978b
Micro-crustacés	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	NOEC (7 j.)	16	2	Oris et al. 1991

<b>Mollusques</b>	<i>Lymnaea stagnalis</i>	NOEC (119 j.)	< 10	3	Bluzat and Seuge 1982
<b>Poissons</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEC (28 j.)	0.05	2	Yokote et al. 1976
	<i>Fundulus heteroclitus*</i>	NOEC (40 j.)	10	3	Crawford and Guarino 1985

\*espèce marine

#### Sels et esters du 2,4,5-T

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Poissons</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEC (28 j.)	0.02	2	Yokote et al. 1976
	<i>Micropterus dolomieu</i>	NOEC (8 j.)	< 1	3	Hiltibran 1967
	<i>Lepomis cyanellus</i>	NOEC (8 j.)	1	3	

#### Algues :

Bringmann and Kühn 1978b ont testé la toxicité du 2,4,5,-T sur l'algue verte *Scenedesmus quadricauda* et sur l'algue bleue *Microcystis aeruginosa*. Les conclusions de cet essai sont reprises dans Bringmann and Kühn 1978a. Les essais ont été réalisés dans des récipients fermés (éclairage constant, 27°C, pH 7). Il n'y a pas eu de suivi analytique. L'effet étudié porte sur la croissance de la population. Des groupes témoins ont été réalisés. La biomasse algale a été mesurée par spectrométrie à 578 nm. La durée de l'essai est de 8 jours. A la fin de l'essai, la concentration entraînant une inhibition du taux de croissance de 3 % (EC<sub>3</sub>), pouvant être assimilée à une NOEC, a été déterminée à 220 mg/L pour *Scenedesmus quadricauda* et à 52 mg/L pour *Microcystis aeruginosa*. Ce dernier résultat (NOEC = 52 mg/L) est cité dans le rapport RIVM 1997.

*La durée d'exposition est importante pour l'algue Scenedesmus quadricauda et après 8 jours la phase exponentielle de croissance ne peut pas être garantie. En revanche, la courbe de croissance de l'algue bleue Microcystis aeruginosa montre que celle-ci se trouve effectivement dans sa phase exponentielle de croissance à 8 jours. L'essai est donc jugé valide pour Microcystis aeruginosa mais celui pour Scenedesmus quadricauda ne sera pas retenu.*

L'essai de Krebs 1991 sur *Chlorococcales sp.*, est cité dans la base de données AQUIRE . Il est rapporté que le test a été réalisé en système statique et que le critère d'effet portait sur la physiologie des algues.

*La publication originale n'a pu être consultée, il n'est pas possible de juger de la validité de l'essai et la EC<sub>10</sub> (24 h) = 32 mg/L n'est donnée qu'à titre indicatif.*

L'essai de Palmer and Maloney 1955 sur *Chlorella variegata* et *Scenedesmus obliquus* a été réalisé sur 21 jours à une température constante de 22°C, dans des flacons de 25 mL. La concentration cellulaire initiale était de 125 000 cellules/mL. Une seule concentration a été testée : 2 mg/L. Au bout de 72 heures, la croissance des algues exposées à 2 mg/L de toxique était similaire à celle observée dans le groupe témoin.

*L'essai est peu renseigné et aucune information n'est disponible quant à la croissance cellulaire dans les témoins. Ce résultat est retenu, mais avec restrictions.*

Vance and Smith 1969 ont réalisé des essais sur algues vertes (*Chlamydomonas eugametos*, *Chlorella pyrenoidosa* et *Scenedesmus quadricauda*) dans des flacons de 125 mL. Un éclairage constant a été utilisé. La température était de 25°C et le pH de 7. Les cultures de cellules initiales étaient en phase de croissance exponentielle. Les concentrations d'essai et les groupes témoins ont été dupliquées et chaque essai a été réalisé trois fois. Il est indiqué que le nombre de concentrations d'essai était limité en raison du caractère insoluble du 2,4,5-T. Au bout de 96 heures d'exposition à des concentrations allant jusqu'à 200 mg/L, aucun effet sur la croissance algale n'a été observé.

*L'essai est peu renseigné et aucune information n'est disponible quant à la croissance cellulaire dans les témoins. Ce résultat est retenu, mais avec restrictions.*

#### Micro-crustacés :

L'essai de Oris et al. 1991 sur *Ceriodaphnia dubia* (individus âgés de moins de 12 h) a été réalisé sur 7 jours en système semi-statique : 2 renouvellements du milieu ont été effectués durant le test. La pureté de la substance était > 99% et sa dissolution a été facilitée par l'ajout de méthanol (< 0.1%). 4 concentrations ont été testées en duplicat. Un groupe témoin a également été réalisé par rapport au solvant. 10 animaux répartis individuellement ont été utilisés pour chaque concentration d'essai et pour le contrôle, dans des récipients d'essai de 30 mL contenant 15 mL d'eau reconstituée (pH =  $8.18 \pm 0.04$ , dureté =  $57.07 \pm 4.14$  mg CaCO<sub>3</sub>/L, alcalinité =  $81 \pm 4.22$  mg CaCO<sub>3</sub>/L). La température du milieu d'essai était de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  et la photopériode était de 16 heures à une intensité de 28 lux. Les individus étaient alimentés tous les jours. Deux paramètres ont été mesurés quotidiennement : le nombre de descendants produits par femelle et le pourcentage de survivants. A la fin de l'essai la mortalité dans le groupe témoin n'a pas dépassé les 10 % et le nombre moyen de descendants produits par femelle était de  $22.4 \pm 4.8$ . Un suivi analytique a été réalisé et les résultats obtenus sont exprimés par rapport aux concentrations mesurées. Une MATC (7 j.) = 19.6 mg/L a été calculée par rapport au paramètre mesuré le plus sensible qui était le nombre de descendants produits par femelle. Graphiquement, la NOEC (7 j.) a été déterminée égale à 16 mg/L et ce résultat est cité dans le rapport RIVM 1997.

*L'essai est bien renseigné mis à part sur la concentration en oxygène dissous et l'alimentation des organismes. Par ailleurs, une série de témoins du milieu d'essai sans le solvant n'a pas été réalisée et le méthanol a été utilisé comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (< 0.1 mL/L). Compte tenu de ces remarques, la NOEC à 7 jours égale à 16 mg/L est considérée valide sous restrictions.*

#### Mollusques :

L'essai de Bluzat and Seuge 1982 sur le mollusque *Lymnaea stagnalis*, a été conduit en milieu semi-statique (renouvellement hebdomadaire). La température était de  $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , la dureté totale de l'eau de 230 mg CaCO<sub>3</sub>/L et le pH de 7.5. Il est indiqué qu'une concentration convenable en O<sub>2</sub> dissous a été assuré tout au long de l'essai. La pureté de l'acide 2,4,5-T était > à 99 %. Trois concentrations ont été testées : 10, 20 et 40 mg/L. L'acétone a été utilisée comme solvant et sa quantité a été doublée pour la plus forte des concentrations testées. Deux contrôles solvants ont été réalisés, l'un à 0.1% d'acétone et l'autre à 0.2 %. L'essai a débuté le jour de l'éclosion. Trois paramètres ont été mesurés : le pourcentage de survivants, la croissance de la coquille et la fécondité. Pour la mesure de la fécondité, un comptage hebdomadaire des œufs émis a été réalisé sur 8 mois et les données obtenues ont été exprimées en terme de moyenne mensuelle. Le % de survivants et la hauteur de la coquille (sur les 40 plus grands mollusques) ont été mesurés au bout de 5 semaines (35 j.) puis une fois par mois jusqu'au onzième mois. A la fin du 4<sup>ème</sup> mois, chaque groupe était composé de 12 mollusques. Les résultats obtenus sont exprimés en fonctions des concentrations mesurées.

Une NOEC sur 17 semaines (119 j.) égale à 10 mg/L a été déterminée par rapport au % de survivants. Par contre, la fécondité et le taux de la croissance coquillière apparaissent comme les paramètres les plus sensibles avec une NOEC sur 17 semaines < à 10 mg/L.

*L'essai est moyennement documenté. L'existence de réplicats et les conditions d'exposition (densité de la population par récipient, alimentation) ne sont pas précisés. Aucune série de témoins de l'eau de dilution n'a été réalisée et le protocole ne permet pas de déterminer une valeur significative de NOEC. L'acétone a été utilisée comme solvant à une concentration excédant celle recommandée par la plupart des normes et des lignes directrices (il est recommandé de ne pas dépasser 0.1 mL/L). Ce résultat n'est donné qu'à titre indicatif.*

#### Poissons :

Crawford and Guarino 1985 ont réalisé un essai chronique sur une espèce estuarienne, *Fundulus heteroclitus*, aux premiers stades de la vie. L'essai a été conduit dans de l'eau de mer, en système semi-statique et fermé. L'acétone a été utilisée comme solvant. L'essai a démarré dès la fertilisation et à chaque stade de développement les anomalies ont été enregistrées. Pendant 40 jours d'exposition, les quatre concentrations testées (0.01, 0.1, 1 et 10 mg/L) n'ont eu aucun effet toxique sur le développement des poissons.

*Un certain nombre d'informations cruciales sont manquantes : la qualité du milieu d'essai (O<sub>2</sub> dissous, pH), le taux global de survie des œufs fécondés dans les groupes témoins et l'existence d'un contrôle solvant. De plus, le protocole ne permet pas de déterminer une valeur significative de NOEC. Compte-tenu de ces remarques et de l'absence de suivi analytique, cet essai est jugé non valide.*

Hiltibran 1967 a étudié la toxicité chronique d'un ester du 2,4,5-T (l'isooctyl ester n°CAS : 25168-15-4) sous forme liquide (2 concentrations d'essai : 1 et 4 mg/L) et granulaire (1 concentration d'essai : 10 mg/L). 3 espèces ont été utilisées : *Lepomis cyanellus*, *Lepomis macrochirus* et *Micropterus dolomieu*. L'essai a démarré dès que les œufs aient été fécondés et 20 embryons par concentration d'essai ont été immergés dans 1 L d'eau de dilution. Les éclosions se sont achevées au bout 72 heures environ. La température s'est échelonnée de 22 à 25 °C. Les survivants étaient dénombrés régulièrement et leur longueur était mesurée. Aucune alimentation n'a été fournie aux organismes durant le test qui s'est terminé au bout de 8 jours afin de limiter les risques de mortalité par famine. Les résultats sont exprimés en nombre de jours de survie des larves (de 0 à 8 jours). Au bout de 8 jours d'exposition, la substance testée sous forme granulaire n'a présenté aucun effet léthal. La substance sous forme liquide a provoqué 100 % de mortalité chez l'espèce *Micropterus dolomieu* exposée à 1 mg/L. A cette même concentration aucun effet léthal n'a été observé pour les deux autres espèces mais à 4 mg/L, les larves de *Lepomis cyanellus* n'ont survécus qu'une journée. Une NOEC < 1 mg/L et = 1 mg/L peuvent être proposées pour *Micropterus dolomieu* et *Lepomis cyanellus* respectivement.

*Le protocole est mal renseigné notamment sur la qualité du milieu d'essai (O<sub>2</sub> dissous, pH), l'existence de groupes témoins et de réplicats. Par ailleurs, l'utilisation de méthodes statistiques appliquées aux résultats n'est pas précisée et un certain nombre de paramètres importants ne sont pas conformes à ceux préconisés par la Ligne directrice 210 de l'OCDE : la durée de l'essai (normalement jusqu'à l'autonomie des poissons), l'alimentation des poissons (devrait être appropriée à l'espèce afin d'augmenter le taux de survie), le nombre d'œufs par concentration (au moins 60 œufs sont recommandés) et le nombre de concentrations testées (5 normalement). Ce résultat ne sera pas utilisé.*

Yokote et al. 1976 ont étudié la toxicité chronique de l'acide 2,4,5-T et d'un produit commercial composé d'un ester du 2,4,5-T (cf. partie 2.1). Ces essais ont été réalisés sur *Oncorhynchus mykiss* dans des conditions de milieu dynamiques. Les organismes ont été exposés pendant 12 semaines à trois concentrations d'essai pour le 2,4,5-T (0.002, 0.02 et 0.05 mg/L) et à deux concentrations d'essai pour l'ester (0.02 et 0.12 mg/L). Un contrôle a également été réalisé. 50 poissons ont été testés par concentration d'essai. La mortalité et la croissance ont

été mesurées toutes les deux semaines. Au bout de 28 jours, la mortalité dans le groupe témoin était < à 10%. Aucun effet sur la croissance et la mortalité n'a été observé pour l'ensemble des concentrations testées de l'acide 2,4,5-T. Ces mêmes résultats ont également été obtenus après 12 semaines d'exposition, soit 84 jours. Pour l'ester, une mortalité d'environ 7 % a été obtenue au bout de 10 semaines d'exposition à 0.02 mg/L et une mortalité de 30 % a été obtenue au bout de 6 semaines d'exposition à 0.12 mg/L. Les résultats obtenus sur la croissance sont représentés graphiquement et des NOEC (28 j.) = 0.02 mg/L et 0.05 mg/L peuvent être définies pour l'ester et l'acide respectivement. Par ailleurs, une étude histologique des poissons a également été menée. Elle a mis en évidence de légères pathologies histologiques dès 4 semaines d'exposition aux plus faibles concentrations testées pour les deux toxiques (0.02 mg/L pour l'ester et 0.05 mg/L pour le 2,4,5-T).

*Les essais sont moyennement renseignés notamment sur les soins apportés aux poissons et la qualité de l'eau dans les récipients d'essai. Par ailleurs, l'existence de réplicats n'est pas précisé. Ces essais sont donc jugés valides avec restrictions.*

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

Nous disposons de données chroniques valides pour les trois niveaux trophiques pour le 2,4,5-T. Parmi les données disponibles pour l'acide 2,4,5-T ce sont les poissons qui apparaissent les plus sensibles en aigu et en chronique. Ainsi, selon la méthodologie recommandée par la Table 16 du TGD (E.C. 2003), la PNEC peut être dérivée en appliquant un facteur d'extrapolation de 10 sur le plus faible résultat d'essai chronique disponible. Ainsi :  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.02/10 \text{ mg/L}$ , soit :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 2 \mu\text{g/L}$$

Cependant, il convient de souligner qu'aucune donnée sur plante aquatique n'a pu être trouvée dans la littérature pour le 2,4,5-T. Or, pour l'herbicide 2,4-D, structurellement très proche du 2,4,5-T, et qui a un mode d'action similaire (régulateur de croissance de type auxinique), les plantes aquatiques étaient les organismes les plus sensibles.

Pour les esters du 2,4,5-T, nous disposons de trop peu de données d'écotoxicité valides pour pouvoir dériver une PNEC<sub>aqua</sub> distincte. Cependant, en se référant au 2,4-D, les esters sont généralement plus toxiques que les formes acides ou les sels.

### 4. BIBLIOGRAPHIE

Alabaster, J. S. (1969). "Survival of fish in 164 herbicides, insecticides, fungicides, wetting agents, and miscellaneous substances." Int. Pest Control 11(2): 29-35.

AQUIRE. <http://www.epa.gov/ecotox/>

Bluzat, R. and J. Seuge (1982). "Chronic Intoxication by an Herbicide, 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid, in the Pond Snail, *Lymnaea stagnalis* L." Environ.Res. 31(12): 440-447.

Bodenstein, G. and G. Ullerbastgen (1970). Z Pflanzenkrankh Pflanzenschutz 67:105-153. In Nat'l Research Council Canada; Phenoxy Herbicides Their Effects on Environmental Quality p. 183 (1978) NRCC No. 16075.

Bohmont, B. L. (1967). Proc West Weed Conf 21: 25-27. In Nat'l Research Council Canada: Phenoxy Herbicides Their Effects on Environmental Quality (1978) NRCC No. 16075.

Bringmann, G. and R. Kühn (1978a). "Grenzwerte der Schädigung wassergefährdender Stoffe gegen Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*) und Grünalgen (*Scenedesmus quadricauda*) im Zellvermehrungshemmtest." Vom Wasser 50: 45-60.

Bringmann, G. and R. Kühn (1978b). "Testing of substances for their toxicity threshold: Model organisms *Microcystis (Diplocystis) aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*." Mitt. Internat. Verein. Limnol. 21: 275-284.

Butler, P. A. (1965). "Commercial fishery investigations." In: Effects of Pesticides on Fish and Wildlife service Circular, No.226: 65-77.

Byast, T. H. and R. J. Hance (1975). "Dégradation of 2,4,5-T by south Vietnamese soils incubated in the laboratory." Bull Environ Contam Toxicol 14(1): 71-76.

Carr, R. S. (1987). Memorandum. Dec.21 Memo to Frank Gostomski. Washington, D.C., U.S.EPA: 71 p.

Crawford, R. B. and A. M. Guarino (1985). "Effects of environmental toxicants on development of a teleost embryo." J. Environ. Pathol. Toxicol. 6(2): 185-194.

Davis, J. T. and J. S. Hughes (1963). Further Observations on the Toxicity of Commercial Herbicides to Bluegill Sunfish. Proc.16th Annu.Meeting Southern Weed Conf. (Used Ref 612).

Dive, D., H. Leclerc and G. Persoone (1980). "Pesticide Toxicity on the Ciliate Protozoan *Colpidium campylum*: Possible Consequences of the Effect of Pesticides in the Aquatic Environment." Ecotoxicol. Environ. Saf. 4: 129-133.

Doudoroff, P., B. G. Anderson, G. E. Burdick, P. S. Galtsof, W. B. Hart, R. Patrick, E. G. Strong, E. G. Surber and V. W.M. (1951). "Bio-assay methods for the evaluation of acute toxicity of industrial wastes to fish." Sewage and Industrial Waste 25(11): 1380-1397.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Luxembourg, Office for Official Publications of the European Communities.

Fabacher, D. L. and H. Chambers (1974). "Resistance to Herbicides in Insecticide-Resistant Mosquitofish, *Gambusia affinis*." Environ.Lett. 7(1): 15-20.

Garten, C. T. and Trabalka (1983). "Evaluation of Models for Predicting Terrestrial Food Chain Behavior of Xenobiotics." Environ. Sci. Technol. 17(10): 590-595.

Hansch, C. and A. J. Leo (1985). MedChem Project, issue n°26. Claremont, CA, Pomona college.

Hartley, D. and H. Kidd (1983). The Agrochemicals Handbook. Old Woking Surrey, England, Unwin Bros Ltd.

Hartley, D. and H. Kidd (1987). The Agrochemicals Handbook. Lechworth, Herts, England, The Royal Society of Chemistry.

Hiltibran, R. C. (1967). "Effects of Some Herbicides on Fertilized Fish Eggs and Fry." Trans.Am.Fish.Soc. 96: 414-416.

HSDB (2000). <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

Huang, J. C. and E. F. Gloyna (1968). "Effect of Organic Compounds on Photosynthetic Oxygenation-I. Chlorophyll Destruction and Suppression of Photosynthetic Oxygen Production." Water Res 2: 347-366.

Hughes, J. S. and J. T. Davis (1963). "Variations in Toxicity to Bluegill Sunfish of Phenoxy Herbicides." Weeds 11: 50-53.

Hughes, J. S. and J. T. Davis (1964). "Effects of Selected Herbicides on Bluegill Sunfish." Proc.Annu.Conf.Southeast.Assoc.Game Fish Comm. 18: 480-482.

IPCS-INCHEM (1996). <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics0436.htm>

Johnson, C. R. (1978). "Herbicide Toxicities in the Mosquito Fish, *Gambusia affinis*." Proc.R.Soc.Queensl. 89: 25-27.

Johnson, W. W. and M. T. Finley (1980). Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. Washington, DC, Resource publication 137.

Juhnke, I. and D. Lüdemann (1978). "Results of the investigation of 200 Chemical Compounds for Acute Fish Toxicity with the Golden Orfe Test. (Ergebnisse der Untersuchung von 200 chemischen verbindung auf akut: Fischtoxizität mit dem Goldorfeentest)." Zeitschrift Wasser-Abwasser Forsch. 11(5): 161-164.

Kenaga, E. E. and C. A. I. Goring (1980). Relationship between water solubility, soil sorption, octanol/water partitioning, and concentration of chemicals in biota. Philadelphia, PA, American Society for Testing and Materials.

Knappek, R. and S. Lakota (1974). "Biological testing to determine toxic effects of pesticides in water." Tagungsber. Akad. Landwirtschaftswiss 126: 105-109.

Krebs, F. (1991). "Bestimmung der Biologischen Schädigung Wassergefährdender Stoffe im Assimilations-Zehrungs-Test (A-Z-Test)." Deutsche Gewässerkundliche Mitteilungen. 35(5/6): 161-170.

Lowe, J. I., P. D. Wilson and R. B. Davison (1970). Laboratory Bioassays. Washington, D.C., U.S.Fish Wildl.Serv., Circ.335: 20-23.

Lyman, W. J., W. F. Reehl and D. H. Rosenblatt (1982). Handbook of Chemical Property Estimation Methods; Environmental Behavior of Organic Compounds. New York, McGraw-Hill,

Lysak, A., J. Marcinek and P. Y. T. R. Source: (1972). "Multiple Toxic Effect of Simultaneous Action of Some Chemical Substances on Fish." Rocz.Nauk Roln.Ser.H Rybactwo 94(3): 53-63.

MacKay, D., W. Y. Shiu and K. C. Ma (2000). Physical-chemical properties and environmental fate Handbook, Chapman & Hall.

Matida, Y., S. Kimura, H. Tanaka and M. Yokote (1976). "Effects of Some Herbicides Applied in the Forest to the Freshwater Fishes and Other Aquatic Organisms - III. Experiments on the Assessment of Acute." Bull.Freshwater Fish.Res.Lab. 26(2): 79-84.

Mayer, F. L. J. and M. R. Ellersieck (1986). Manual of Acute Toxicity: Interpretation and Data Base for 410 Chemicals and 66 Species of Freshwater Animals. Washington, DC, U.S.Dep.Interior, Fish Wildl.Serv.: 505 p.

Mc Corkle, F. M., J. E. Chambers and J. D. Yarbrough (1977). "Acute Toxicities of Selected Herbicides to Fingerling Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*." Bull.Environ.Contam.Toxicol. 18(3): 267-270.

- Nishiuchi, Y. and Y. Hashimoto (1967). "Toxicity of Pesticide Ingredients to Some Fresh Water Organisms." Sci.Pest Control /Botyu-Kagaku 32(1):5-11 32(1): 5-11.
- Oris, J. T., R. W. Winner and M. V. Moore (1991). "A Four-Day Survival and Reproduction Toxicity Test for *Ceriodaphnia dubia*." Environ.Toxicol.Chem. 10(2): 217-224.
- Palmer, C. M. and T. E. Maloney (1955). "Preliminary screening for potential algicides." The Ohio Journal of Science LV (55)(1): 1-8.
- Rehwoldt, R., G. Bida and B. Nerrie (1971). "Acute toxicity of copper, nickel and zinc ions to some Hudson river fish species." Bull. environ. Contam. Toxicol. 6: 445-448.
- Rehwoldt, R., E. Kelley and M. Mahoney (1977). "Investigations into the acute toxicity and some chronic effects of selected herbicides and pesticides on several fresh water fish species." Bull Environ Contam Toxicol 18(3): 361-365.
- Rehwoldt, R., L. W. Menapace, B. Nerrie and D. Alessandrello (1972). "The Effect of Increased Temperature upon the Acute Toxicity of Some Heavy Metal Ions." Bull. Environ. Contam. Toxicol. 8(2): 91-96.
- RIVM (1997). Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentrations for metals taking background concentrations into account. Bilthoven, The Netherlands, National Institute of Public Health and Environmental Protection: 260.
- Skurlatov, Y. I., L. S. Ernestova, E. V. Vichutinskaya, D. P. Samsonov, R. I. Pervunina, I. V. Semenova and V. O. Sjvydly (1983). "Formation of Dibenzodioxins and Dibenzofurans in the Photochemical Transformation of Polychlorinated Phenols." J. Agric. Food Chem. 31: 1065-1071.
- SRC (1988). Syracuse Research Corporation calculated values.
- US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,.
- Vance, B. D. and D. L. Smith (1969). "Effects of Five Herbicides on Three Green Algae." Tex.J.Sci. 20(4): 329-337.
- Vancil, J. E. (1976). Acute Toxicity of 2,4,5-T to Three Species of Limnetic Rotifers (*Keratella cochlearis* (Gosse), *Keratella americana* Carlin, and *Brachionus angularis* G. Knoxville, TN, University of Tennessee: 148 p.
- Verschueren, K. (1983). Handbook of Environmental Data of Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.
- Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.
- Walsh, G. E. (1972). "Effects of Herbicides on Photosynthesis and Growth of Marine Unicellular Algae." Hyacinth Control J. 10: 45-48.
- Worthing, C. R. and S. B. Walker (1987). The Pesticide Manual - A World Compendium. Thornton Heath, UK, British Crop Protection Council.
- Wssa (1983). Herbicide Handbook 5th ed.
- Yokote, M. S., S. Kimura, H. Kumada and Y. Matida (1976). "Effects of some herbicides applied in the forest to the freshwater fishes and other aquatic organisms - IV. Experiments on the assessment of acute and subacute toxicities of 2,4,5-T to the Rainbow trout." Bull. Freshwater Fish. Res. Lab. 26(2): 85-98.

# Tetrabutylétain – n° CAS 1461-25-2

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Etat physique :	liquide
Poids moléculaire :	347.16 g/mol
Point de fusion :	-97 °C HSDB, 2003
Point d'ébullition :	145 °C HSDB, 2003
Pression de vapeur :	0.6 Pa HSDB, 2003
Solubilité :	8.8 mg/L à 20 °C (IUCLID)
Log Kow :	9.4 estimé Meylan and Howard, 1995
Constante de Henry :	23.7 Pa.m <sup>3</sup> /mol calculée

Etant donné les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le tétrabutylétain peut être considéré comme faiblement soluble et volatil en solution aqueuse. L'étude de la volatilisation de la substance dans un modèle de rivière et un modèle de lac a montré des temps de 1/2 vie de 5 h et 7 jours (SRC), respectivement. Un log Koc de 5 estimé par SRC laisse prévoir une forte adsorption du tétrabutylétain sur les parois des récipients d'essais.

Des précautions doivent donc être prises lors de la réalisation des essais d'écotoxicité.

D'une part, il est crucial de vérifier si des mesures particulières ont été prises pour limiter la perte du produit par volatilisation: essais en système clos, renouvellement des milieux d'essai...Un suivi analytique est très fortement recommandé compte tenu de l'importance des phénomènes d'adsorption et de volatilisation. D'autre part, il faudra vérifier que les concentrations testées sont en deçà du seuil de solubilité. Dans le cas contraire, un solvant pourra être utilisé.

### 1.2 Persistance

Les essais de biodégradabilité facile réalisés selon les lignes directrices OCDE ont montré que le tétrabutylétain n'était pas facilement biodégradable avec un pourcentage de biodegradation inférieur à 10% après 28 jours d'incubation (méthode OCDE 301D) (IUCLID). Les résultats obtenus par le MITI, 1992 viennent confirmer cette conclusion.

Compte tenu de sa structure moléculaire, l'hydrolyse du tétrabutylétain paraît improbable (HSDB).

### 1.3 Bioaccumulation

Des résultats de bioaccumulation pour *Cyprinus carpio* sont répertoriés dans le MITI, 1992. Les BCF déterminés après une exposition de 12 semaines à des concentrations de 5 et 0.5 µg/L sont en moyenne de 68 et 219, respectivement.

Ces valeurs suggèrent un certain potentiel de bioaccumulation du tétrabutylétain chez les organismes aquatiques.

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Micro-organismes	<i>Pseudomonas putida</i>	EC50 (16 h) EC10 (16 h)	1.7 0.6	4	TNO Delft, 1989 cité dans Verschueren, 2001
	Boues activées	IC50 (3h) Inhibition de la consommation d'oxygène	>10	4	Verschueren, 2001
Algues	<i>Skeletonema costatum</i> *	EC50' (72h) EC50'' (72h) LC50'' (72h)	0.017 0.186 >0.5	3	Walsh <i>et al.</i> , 1985
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC50 (72h) EC50 (96h)	0.036 0.042	4	Becker, 1992 cité dans AQUIRE
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	IC50 (48h)	1.3	4	cité dans Verschueren, 2001
	<i>Daphnia magna</i>	IC50 (24h)	1.55	3	Vighi and Calamari, 1985
Poissons	<i>Pimephales promelas</i>	LC50 (96h)	0.045	1	Geiger <i>et al.</i> , 1990
	<i>Oryzias latipes</i>	LC50 (48h)	0.723	3	MITI, 1992
	<i>Oryzias latipes</i>	LC50 (48h)	5.2 (0.015 mmol/L)	3	Nagase <i>et al.</i> , 1991
	<i>Leuciscus idus</i>	LC50 (48h)	10	4	Steinhäuser <i>et al.</i> , 1985 cité dans AQUIRE

' début du test en phase de croissance exponentielle (critère d'effet, croissance)

'' début du test 48 heures après la phase de croissance exponentielle (critère d'effet, mortalité)

espèce marine

#### Micro-organismes :

Les résultats présentés dans le tableau ne sont pas utilisables pour le calcul d'une PNEC<sub>aqua</sub> et ne sont donnés ici qu'à titre indicatif.

#### Algues :

Walsh *et al.*, 1985 ont conduit un essai en milieu d'eau salée (30 g/L) dans lequel deux espèces d'algues ont été exposées au tetrabutylétain : *Skeletonema costatum* et *Thalassiosira pseudonana*. La concentration en cellules en début de test était de 2500 cellules/mL. Les tests ont été réalisés dans des conditions statiques et les concentrations testées n'ont pas été suivies analytiquement (autres conditions lors de l'essai : 20°C ; pH=8.1 ; cycle jour/nuit de 12 h/12 h). Cinq concentrations ont été testées ainsi qu'un contrôle et un témoin pour le solvant utilisé (0.02% d'acétone) avec trois réplicats. Au cours d'un second test, la mortalité de *S. costatum* a été observée, dans les mêmes conditions que précédemment (deux réplicats au lieu de trois). Les EC50 (1<sup>er</sup> test) et EC50 / LC50 (2<sup>nd</sup> test) après 72 h ont été obtenues à partir de la méthode de la moyenne mobile. Les résultats sont basés sur les concentrations nominales car aucun suivi analytique n'a été effectué au cours de l'essai. Les concentrations des solutions mères ont été mesurées après digestion à l'acide (HNO<sub>3</sub>) et seules des déviations de +/-3% des concentrations nominales ont été acceptées. L'EC50 reportée pour le test sur la mortalité des cellules d'algues est supérieure à celle obtenue lors du test sur la croissance cellulaire car la biomasse au début du test était supérieure lors du test sur la mortalité.

Aucune mesure de limitation de la volatilisation de la substance n'a été prise. Par ailleurs, l'adsorption du tetrabutylétain étant un phénomène important, un suivi analytique dans les solutions d'essai aurait dû être réalisé. Par conséquent, ce résultat n'est pas jugé valide.

Deux valeurs de LC<sub>50</sub> à 72 h et 96 h déterminées par Becker (1992), respectivement, 0,036 et 0,042 mg/L, sont citées dans AQUIRE. Aucun renseignement supplémentaire n'est donné.

*La publication ou le rapport d'essai pour cette étude étant indisponibles, il n'est pas possible de juger de sa validité.*

#### Micro-crustacés :

Vighi et Calamari (1985) ont réalisé un essai en conditions statiques sur des daphnies âgées de moins de 24 h selon la directrice de l'OECD (essai d'immobilisation immédiate, n°202). Cinq individus ont été disposés dans le milieu d'essai pour chaque concentration. L'utilisation d'un solvant, l'acétone, a été faite dans les limites requises par les lignes directrices de l'OCDE. Les concentrations n'ont pas été mesurées. Autres conditions du milieu d'essai : 20°C, dureté=200 mg CaCO<sub>3</sub>/L, oxygène dissous >70% de saturation, pH=7.5.

La mortalité a été observée après 24 heures et une LC<sub>50</sub> de 1.55 mg/L a été calculée selon la méthode de Litchfield et Wilcoxon (1949).

*L'absence de suivi analytique ainsi que de précaution visant à limiter les pertes par volatilisation nous conduisent à invalider les résultats de ce test.*

#### Poissons :

Geiger *et al.*, (1990) ont testé le tetrabutylétain sur des *Pimephales promelas* âgés de 31 jours, de 19.7 mm de longueur et pesant en moyenne 0,109 g. L'essai a été mené dans des conditions dynamiques (dureté=44,3 mg/L CaCO<sub>3</sub>; pH=7,7 ; température : 25,3 °C) avec une substance pure à 96%. Au total, 20 poissons ont été testés sur 5 concentrations (20 ; 39 ; 59 ; 78 et 98 mg/L) et un témoin. Un suivi analytique des concentrations d'essai a montré de faibles variations par rapport aux concentrations nominales. Aucune mortalité n'est apparue dans le lot témoin. La LC<sub>50</sub> (96 h) a été déterminée à 45.2 (41.6 – 49.2) µg/L.

*Cet essai est jugé valide pour cette étude.*

Nagase *et al.* (1991) ont réalisé un essai sur *Oryzias latipes* dans des conditions semi-statiques (le milieu d'essai était renouvelé toutes les 24 h) et selon la ligne directrice 203 de l'OCDE. Il a été réalisé à 20 ± 1°C, sans suivi analytique. Un solvant (diméthylsulfoxyde) et un dispersant (HCO-40) ont été utilisés. Des témoins ont été soumis à des solutions avec le diluant (à la plus forte concentration utilisée dans les milieux d'essai) et sans le diluant. Dix poissons ont été testés dans 2 litres de solution, avec au minimum cinq concentrations d'essai espacées d'un facteur <1,8. Le pH et la concentration en oxygène dissous ont été mesurés toutes les 24 h. La LC<sub>50</sub> (48 h) a été déterminée à 5.2 mg/L à partir des concentrations nominales.

*Là encore, l'absence de suivi analytique ainsi que de précaution visant à limiter les pertes par volatilisation nous conduisent à invalider les résultats de ce test.*

Dans MITI (1992) est reporté le résultat d'un essai sur *Oryzias latipes*. Le test a été conduit selon la norme japonaise JIS K 0102–1986–71 ("Testing methods for industrial waste water") dans des conditions semi-statiques (renouvellement du milieu toutes les 24 h), à 25 ± 2 °C. Les poissons ont été acclimatés pendant 28 jours à 25°C avec un système à renouvellement continu. Les poissons ont été testés par groupe de 10 dans 4 L de milieu pendant 48 h. L'eau utilisée provenait d'une nappe souterraine. Il est mentionné que la chimie de l'eau a été régulièrement contrôlée (pH, oxygène dissous, dureté, minéralisation et présence éventuelle de micropolluants). Il n'y a pas eu de suivi analytique. La LC<sub>50</sub> (48 h) a été déterminée à 723 µg/L.

*Même si le milieu a été renouvelé quotidiennement, cet essai est invalidé du fait de l'absence de suivi analytique et de mesures pour réduire les pertes par volatilisation de la substance.*

Une LC50 (48h) de 10 mg/L déterminée par Steinhäuser *et al.* (1985) sur *Leuciscus idus* est citée AQUIRE. L'essai a été réalisé selon la norme allemande DIN 38 412, partie 15.

*La publication ou le rapport d'essai pour cette étude étant indisponibles, il n'est pas possible de juger de sa validité.*

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	EC10 (96h) EC10 (96h) EC10 (72h)	0.006 0.018 0.016	4	Becker, 1992 cité dans AQUIRE

Algues :

AQUIRE cite trois EC10 déterminées par Becker, 1992. Aucune information supplémentaire n'a pu être obtenue concernant ces essais.

*La publication ou le rapport d'essai pour cette étude étant indisponibles, il n'est pas possible de juger de sa validité.*

## 3. DETERMINATION DE LA PNECAQUA

On ne dispose pour cette substance que d'une seule donnée valide (donnée aiguë pour poissons). C'est insuffisant pour pouvoir dériver une PNEC.

## 4. BIBLIOGRAPHIE

Geiger, D. L., L. T. Brooke and D. J. Call (1990). Acute toxicities of organic chemicals to feathred minnows (*Pimephales promelas*), Center for Lake Superior environmental studies, University of Wisconsin Superior.

HSDB (2003). Hazardous Substances DataBase, National Library of Medicine. 2004. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

Meylan, W. M. and P. H. Howard (1995). J Pharm Sci 84: 83-92.

MITI (1992). Biodegradation and bioaccumulation data of existing chemicals based on the Chemical Substances Control Law (CSCL). Japan, Chemicals Inspection and Testing Institute (CITI) from the Ministry of International Trade and Industry.

Nagase, H., T. Hamasaki, T. Sato, H. Kito, Y. Yoshioka and Y. Ose (1991). "Structure-Activity Relationships for Organotin Compounds on the Red Killifish *Oryzias latipes*." Appl. Organomet. Chem. 5: 91-97.

Steinhäuser, K. G., W. Amann, A. Späth and A. Polenz (1985). "Untersuchungen zur aquatischen Toxizität zinnorganischer Verbindungen." Von Wasser 65: 203-214.

Verschueren, K. (2001). Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Co.

Vighi, M. and D. Calamari (1985). "QSARs for Organotin Compounds on *Daphnia magna*." *Chemosphere* 14(11-12): 1925-1932.

Walsh, G. E., L. L. McLaughlan, E. M. Lores, M. K. Louie and C. H. Deans (1985). "Effects of Organotins on Growth and Survival of Two Marine Diatoms, *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira pseudonana*." *Chemosphere* 14(3-4): 383-392.



# Triazophos– n°CAS : 24017-47-8

## 1. CARACTERISTIQUES

### 1.1 Propriétés physico-chimiques

Type :	Insecticide, acaricide
Formule brute :	C12-H16-N3-O3-P-S
Poids moléculaire :	313.3 g/mol (HSDB, 2000)
Densité :	1.247 à 20°C (HSDB, 2000)
Point de fusion :	3.5 °C (US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004) 2 – 5 °C (Worthing and Walker, 1987)
Point d'ébullition :	408.68°C * (MPBPWIN v.1.41 in US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)
Pression de vapeur :	$3.87 \times 10^{-4}$ Pa à 30°C (Tomlin, 1994; HSDB, 2000)
Solubilité dans l'eau :	24.7 mg/L à 20°C (Yalkowsky and Dannenfelser, 1992; HSDB, 2000)
Log Kow :	3.34 (Tomlin, 1997) 3.55 (HSDB, 2000)
Constante de Henry :	$4.9 \times 10^{-3}$ Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> à 25°C (US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)
Koc :	30000* (HSDB, 2000) 31590* (PCKOCWIN v.1.66 in US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004)

\* valeurs calculées

Le Triazophos est un insecticide organophosphoré qui n'est plus autorisé en Europe depuis 2003. D'après les valeurs de solubilité et de constante de Henry, le Triazophos peut être considéré comme une substance peu soluble et très faiblement volatile. Une étude de la volatilisation de la substance (constante de Henry utilisée =  $4.9 \times 10^{-3}$  Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>) dans un modèle de rivière et un modèle de lac indique des temps de ½ vie de 892.2 jours et de 9740 jours respectivement (US-EPA and Syracuse Research Corporation, 2004). Les valeurs estimées du Koc laisse prévoir une forte adsorption du Triazophos sur les sédiments et les particules en suspension dans l'eau. Ainsi, les résultats d'essais écotoxicologiques établis à partir de concentrations mesurées seront privilégiés d'autant plus en système statique ou semi-statique.

### 1.2 Persistance

Des demi-vies d'hydrolyse de 30 à 250 jours ont été mesurées dans de l'eau à 25 °C (Canton and al, 1991).

Lartiges and Garrigues, 1995 ont mesurés en système ouvert des demi-vies de photolyse de 21 jours et de 67 jours en rivière et en mer respectivement Ces mêmes auteurs rapportent des demi-vies de dégradation générale du Triazophos de 41 jours en rivière (pH 7.3 ; 22°C), de 47 jours dans de l'eau de rivière filtrée (pH 7.3 ; 22°C), et de 27 jours en eau de mer (pH 8.1 ; 22°C).

Canton and al, 1991 ont mesuré des temps de demi-vie de biodégradation inférieurs à 35 jours en milieu aqueux.

### 1.3 Bioaccumulation

Une valeur de BCF = 290, calculée à partir du Log Kow (3.55) (Lyman *et al.*, 1990), suggère que la bioaccumulation du Triazophos dans les organismes aquatiques peut-être relativement importante (HSDB, 2000).

## 2. DONNEES ECOTOXICOLOGIQUES POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES

### 2.1 Ecotoxicité aiguë

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
Algues	<i>Microcystis flos-aquae</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	6.2	2	Ma <i>et al.</i> , 2004
	<i>Anabaena flos-aquae</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	12.7	2	Ma <i>et al.</i> , 2004
	<i>Mirocystis aeruginosa</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	13.4	2	Ma <i>et al.</i> , 2004
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EC <sub>50</sub> (96 h)	30.1	2	Ma <i>et al.</i> , 2004
Micro-crustacés	<i>Daphnia magna</i>	LC <sub>50</sub> (48 h)	0.003	2	Canton <i>et al.</i> , 1980

#### Algues :

Ma *et al.*, 2004 ont réalisé des essais d'inhibition de la croissance sur algues vertes (*C. pyrenoidosa*) et algues bleues (cyanobactéries) (*A. flos-aquae*, *M. flos-aquae*, *M. aeruginosa*) à partir du même protocole expérimental. Le Triazophos a été dissous dans de l'acétone à moins de 0.05%. Les milieux de culture ont été stérilisés et sont ceux définis dans Li, 1959, soit le milieu HGZ pour les cyanobactéries et le milieu HB-4 pour *C. pyrenoidosa*. Le critère d'effet mesuré était la biomasse. Celle-ci a été déterminée par mesure de la densité optique à 680 nm. Les algues (concentration cellulaire initiale DO<sub>680nm</sub> = 0.08) ont été exposées pendant 96 heures à une gamme de concentrations allant de 0.02 à 200 mg/L qui a été définie par un test préliminaire. La température était de 24°C et le milieu était agité. Les essais et contrôles ont été réalisés en triplicata dans des erlenmeyers stérilisés de 50 mL (avec 20 mL de solution d'essai) et sous un éclairage constant. Les EC<sub>50</sub> (96 h) pour *M. flos-aquae*, *A. flos-aquae*, *M. aeruginosa* et *C. pyrenoidosa* ont été déterminées à 6.1637, 12.7446, 13.4032 et 30.1166 mg/L respectivement

*Le protocole expérimental apparaît globalement satisfaisant mis à part l'absence d'informations sur le pH, les concentrations cellulaires et un éventuel témoin par rapport au solvant. Il n'y a pas eu de suivi analytique. Compte-tenu de ces remarques, ces essais sont considérés valides avec restrictions.*

#### Micro-crustacés :

L'essai de toxicité aiguë de Canton *et al.*, 1980 sur *Daphnia magna* est cité dans le rapport RIVM, 1997, mais la publication originale n'a pu être consultée.

*Ce résultat a été sélectionné par le RIVM. Compte-tenu de l'indisponibilité de la publication originale, il n'a pas été possible de juger par nous même de la validité de l'essai. Cependant, la valeur obtenue (EC<sub>50</sub> sur 48*

heures égale à 0.003 mg/L) suggère une forte toxicité aiguë du Triazophos pour les micro-crustacés et en l'absence d'autres données, ce résultat sera retenu.

## 2.2 Ecotoxicité chronique

Organisme	Espèce	Critère d'effet	Valeur (mg/L)	Validité	Référence
<b>Algues</b>	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	NOEC (96 h)	0.1	2	RIVM, 1997
	<i>Microcystis flos-aquae</i>	NOEC (96 h)	1	2	Ma et al., 2004
	<i>Anabaena flos-aquae</i>	NOEC (96 h)	2	2	Ma et al., 2004
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	NOEC (96 h)	2	2	Ma et al., 2004
	<i>Mirocystis aeruginosa</i>	NOEC (96 h)	5	2	Ma et al., 2004
<b>Micro-crustacés</b>	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21 j.)	$0.32 \times 10^{-3}$	2	ICR, 1997
<b>Poissons</b>	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	NOEC (21 j.)	$0.5 \times 10^{-3}$	2	ICR, 1997

### Algues :

Ma et al., 2004 ont réalisé des essais chroniques d'inhibition de la croissance sur algues vertes (*C. pyrenoidosa*) et algues bleues (*A. flos-aquae*, *M. flos-aquae*, *M. aeruginosa*). Les conditions de milieu sont identiques à celles utilisées pour les essais aigus, de même pour le protocole expérimental (cf. partie 2.1). Les NOEC (96 h) pour *M. flos-aquae*, *A. flos-aquae*, *C. pyrenoidosa* et *M. aeruginosa* ont été déterminées à 1, 2, 2 et 5 mg/L respectivement.

Les remarques faites pour les essais aigus sont également valables pour le chronique : les NOEC (96h) sont donc jugées valides avec restrictions.

Le rapport RIVM, 1997 donne une NOEC 96 h pour *Scenedesmus subspicatus*.

Ce résultat a été sélectionné par le RIVM. Compte-tenu de l'indisponibilité de la publication originale, il n'a pas été possible de juger par nous même de la validité de l'essai. Cependant, la valeur obtenue (NOEC sur 21 jours égale à 0.1 mg/L) est la plus faible obtenue pour les algues. Ce résultat sera pris en compte.

### Micro-crustacés :

L'essai de toxicité chronique de ICR, 1997 sur *Daphnia magna* est cité dans le rapport RIVM, 1997, mais la publication originale n'a pu être consultée.

Ce résultat a été sélectionné par le RIVM. Compte-tenu de l'indisponibilité de la publication originale, il n'a pas été possible de juger par nous même de la validité de l'essai. Cependant, la valeur obtenue (NOEC sur 21 jours égale à  $0.32 \times 10^{-3}$  mg/L) suggère une forte toxicité chronique du Triazophos pour les micro-crustacés et en l'absence d'autres données, il sera tenu compte de ce résultat.

### Poissons :

L'essai de toxicité chronique de ICR, 1997 sur *Oryzias latipes* est cité dans le rapport RIVM, 1997, mais la publication originale n'a pu être consultée.

Ce résultat a été sélectionné par le RIVM. Compte-tenu de l'indisponibilité de la publication originale, il n'a pas été possible de juger par nous même de la validité de l'essai. La durée du test est inférieure à celle

généralement recommandée pour les poissons (28 jours). Cependant, la valeur obtenue (NOEC sur 21 jours égale à  $0.5 \times 10^{-3}$  mg/L) suggère une forte toxicité chronique du Triazophos pour les poissons et en l'absence d'autres données, il sera tenu compte de ce résultat.

### 3. DETERMINATION DE LA PNEC<sub>AQUA</sub>

En considérant les résultats cités dans le rapport RIVM, 1997, on dispose de données chroniques pour au moins trois niveaux trophiques différents. On ne dispose pas de données aiguës pour les poissons, mais ils sont moins sensibles que les crustacés en chronique. La PNEC proposée sera calculée en appliquant un facteur 10 sur la NOEC la plus faible (=  $0.32 \times 10^{-3}$  mg/L, obtenue sur 21 jours pour *Daphnia magna*):  $PNEC_{\text{aqua}} = 0.32 \times 10^{-3} / 10$  mg/L soit :

$$PNEC_{\text{aqua}} = 0.032 \mu/L$$

### 4. BIBLIOGRAPHIE

Canton, J., e. al (1991). Catch-up operation on old pesticides: an integration. RIVM-678801002, NTIS PB92-105063. Rijkinst Volksgeondh Milieuhyg, Bilthoven, The Netherlands: 149 p.

Canton, J. H., R. C. C. Wegman, E. A. M. Mathijssen-Spiekman, J. Y. Wammes (1980). Hydrobiologisch toxicologisch onderzoek met methylobromide. RIVM-628002001.

E.C. (2003). Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) N° 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Office for Official Publications of the European Communities.

HSDB (2000). Hazardous Substances Data Bank (online), National Library of Medicine. 2004.

ICR (1997). Internationale Kommission zum Schutze de Rheins (IKSR), Arbeitsgruppe Gewässerqualität.

Lartiges, S. B., P. P. Garrigues (1995). "Degradation kinetics of organophosphorus and organonitrogen pesticides in different waters under various environmental conditions." Environ. Sci. Technol. 29: 1246-1254.

Li, S. H. (1959). "Mass culture of unicellular green algae." Acta Hydrobiol Sin 4: 121-129.

Lyman, W. J., W. F. Reehl, D. H. Rosenblatt (1990). Handbook of chemical property estimation methods. Washington DC., American Chemical Society.

Ma, J., F. Lin, W. Qin, P. Wang (2004). "Differential Response of Four Cyanobacterial and Green Algal Species to Triazophos, Fentin Acetate, end Ethephon." Bull. Environ. Contam. Toxicol 73: 890-897.

RIVM (1997). Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentrations for pesticides. National Institute of Public Health and Environmental Protection, 601501 002.

Tomlin, C. D. S. (1994). The Pesticide Manual - World Compendium. Surrey, UK, British Crop Protection Council.

Tomlin, C. D. S. (1997). *The Pesticide Manual - World Compendium*. Surrey, England, British Crop Protection Council.

US-EPA and Syracuse Research Corporation (2004). EPI Suite, v.3.12 (17th August 2004), US EPA,.

Worthing, C. R., S. B. Walker (1987). *The Pesticide Manual - A World Compendium*. Thornton Heath, UK, British Crop Protection Council.

Yalkowsky, S. H., R. M. Dannenfelser (1992). *The Aquasol Database of Aqueous Solubility*, College of Pharmacy, University of Arizona-Tucson, AZ.