

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 DE GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT SNVI



MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/ immunologie approfondi

**Thème : Contribution à l'étude de la toxicité des nanoparticules
(cas de l'oxyde de titane et l'oxyde de fer) sur le cycle de vie de
Daphnia magna.**

Présenté par :

- BOUTALBI Karima

Devant le jury composé de :

Président : M^{me}.SOUIKI Linda. (M.C.A)

Examineur : M^{me}.BOUSNANE Hanane Nadia. (M.A.A)

Encadreur : M^f.DJEKOUN Mohamed. (M.C.B)

Juin 2013

Remerciement

Je remercie dieu de tout puissant ; pour m avoir aider à achever ce travail et me permettre ici d'exprimer ma gratitude la plus sincère à tous ceux qui ont ménagé leurs efforts pour m'apporter une aide fructueuse pour réaliser ce mémoire.

*Je tiens à remercier vivement monsieur **DJEKOUN Mohamed** Pour son soutien continuel et sa patience en cours de la réalisation pratique et théorique de ce travail.*

Mes remerciements vont également à la commission d'examen :

*Madame **SOUIKI Linda***

De m'avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté de présider le jury.

*Madame **BOUSNANE Hanane-Nadia***

De m'avoir fait l'honneur de participer à l'évaluation de ce mémoire.

Je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin dans la réalisation de ce travail. Et aussi sans oublier

Je remercie toutes les personnes que j'ai rencontrées durant mon parcours.

MERCI

Sommaire



SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	02
Chapitre I : les nanoparticules	
1. Les nanomatériaux : enjeux, propriétés et risques.....	05
1.1. Apparition et développement des nanotechnologies	05
1.2. Présentation.....	07
1.2.1. Définitions	07
1.2.2. Origine naturelle et/ou anthropique et dissémination dans l'environnement.....	10
1.3. Propriétés des nanomatériaux	11
2. Aspect toxicologique et sanitaire.....	12
2.1. Approche expérimentale.....	15
2.1.1. Les modèle <i>in vitro</i>	15
2.1.2. Les modèles <i>in vivo et ex vivo</i>	17
2.2. Approche chez l'homme.....	17
2.2.1. Etude d'effet des nanomatériaux sur le système antioxydant	17
2.2.2. Particules ultrafines, pollution atmosphérique et effets sur la santé	18
3. Nanomatériaux utilisés pour ce PFE.....	18
3.1. Les Nanoparticules de dioxyde de titane (TiO ₂).....	18
3.1.1. Les effets toxicologiques de TiO ₂	19
3.1.2. L'impact de (TiO ₂) sur l'environnement	21
3.2. Les Nanoparticules de d'oxyde de fer.....	22
3.2.1. Caractéristiques des oxydes de fer	23
3.2.2. La toxicité des nanoparticules de l'oxyde de fer.....	25

Chapitre II : Bio indicateur : (*Daphnia magna*)

1. Définition	28
2. Position taxonomique.....	28
3. Morphologie.....	29
4. Nutrition.....	30
5. Utilisation scientifique.....	31
6. Reproduction.....	31
7. Longévité.....	33
8 Exigences physicochimiques.....	33
8.1. Salinité.....	33
8.2. Oxygène dissous.....	33
8.3. pH et azote	33
8.4. Les sels minéraux	33
8.5. La température	3

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Matériels.....	36
1-1. Matériel biologique	36
1.2. Matériel chimique.....	36
1.3. Appareillage utilisé.....	37
2.Méthodes.....	37
2.1. Culture de <i>Daphnia magna</i>	37
2.2. Les tests écotoxicologique.....	38
2.2.1. Le test de toxicité aigue	38
2.2.2. Le test chronique.....	39

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultats	42
1.1. Toxicité de daphnies par l'oxyde de fer.....	42
1.1.1. Toxicité aiguë	42
1.1.2. Toxicité chronique	43
1.1.3. L'effet des nanoparticules de l'oxyde de fer sur les paramètres de cycle de vie de <i>Daphnia magna</i>	43
1.2. Toxicité de daphnies par l'oxyde de titane.....	44
1.2.1. Toxicité aiguë	44
1.2.2. Toxicité chronique	45
1.2.3. L'effet des nanoparticules de l'oxyde de Titane sur les paramètres de cycle de vie de <i>Daphnia magna</i>	46
2. Discussion.....	49

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Résumé

Liste des abréviations

A

ACV : Analyse du cycle de Vie

ADN : acide désoxyribonucléique

Afssa : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

ARN: acide ribonucléique

ARNm: ARN messenger

ATP: adénosine triphosphate

B

BEUC : Bureau européen des unions de consommateurs

C

CAT: catalase

CE50: concentration efficace qui entraîne 50 % de l'effet maximum

CL50 : concentration létale pour 50 % des individus

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

D

DWNT: nanotubes de carbone double-feuillet

E-F

EPA : environmental protection Agency

ERO : espèces réactives à l'oxygène

G

GPx : glutathion peroxydase

GRd : glutathion réductase

GSH : glutathion réduit

GSSG : glutathion oxydé

GST : glutathion S-transférases

H

HSP: heat shock protein

I-K

IARC : *International Agency for Research on Cancer* - Centre International de Recherche sur le cancer

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

ISO: ISO : *International Standardization Organization* - organisation internationale de normalisation

L

LDH: lactate déshydrogénase

LEM: Laboratoire Environnement et Minéralurgie

LOEC: low observed effect concentration

M

MET: microscopie électronique à transmission

MON : matières organique naturelles

MT: métallothionéine

MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide

MWNT : nanotubes de carbone multi-feuillet

N

NM: nanomatériaux

NOEC : no observed effect concentration

NP: nanoparticules(s)

NSF, National Science Foundation, en français la « Fondation nationale pour la science »

O

OCDE – OECD : Organisation de Coopération et de Développement Economique

OMS : Organisation mondiale de la santé

P

PAMPs: pathogen-associated molecular pattern

PBS: phosphate buffered saline

PCR: polymerase chain reaction

PM_x particules de moins de (x) μm de diamètre :

Q

qPCR : quantitative Polymerase Chain Reaction

R

ROS: Reactive Oxygen Species

S

SOD: superoxyde dismutase

SPA : sous-produits d'altération

SWNT nanotubes de carbone simple feuillet

T

TNF: facteur de nécrose tumorale

U-Z

UV: ultra violet

Liste des figures

Fig	Titre	n° P
1	Nombre total de produits contenant des nanomatériaux manufacturés	6
2	Nombre de produits manufacturés contenant chaque type de matériaux au	7
3	Différents états de configuration des particules à l'état de poudre et dispersé en milieu liquide.	8
4	Classification des nanomatériaux selon la localisation de la nanostructure dans le matériau.	9
5	Distribution en taille de différents types de particules Incluant les nanoparticules.	10
6	Voies potentielles d'exposition aux nanomatériaux	11
7	Illustration de la proportion d'atomes en surface de la NP en fonction de son diamètre.	12
8	Arrangement tétragonal des atomes rutile (7A) ; rutile magmatiques (B).	19
9	Espèces réactives à l'oxygène produites via la réaction de Fenton et au cours de la photocatalyse du TiO ₂ .	20
10	Illustre 02 exemples d'oxyde de fer.	23
11	Quantité d'arsenic adsorbée à la surface d'oxydes de fer (maghémite) en fonction de la taille des particules.	24
12	Indiquant la cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis les cellules pulmonaires humaines (EMPA Laboratoire Materials Biology Interactions).	26
13	A droite : <i>Daphnia magna</i> , femelle adulte. À gauche : Anatomie fonctionnelle de <i>Daphnia</i>	30
14	Cycle de reproduction des daphnies en conditions favorables (asexué: parthénogénétique) et en conditions défavorables (sexuel)	32
15	Taux de mortalité des daphnies (%) en fonction du temps (heures) et en concentration du nano Fe ₂ O ₃	42
16	La mortalité des daphnies traitées par le nano Fe ₂ O ₃ et aux différentes concentrations.	43
17	Variation de la longévité moyenne de <i>Daphnia magna</i> en fonction des doses utilisées de Fe ₂ O ₃ .	44
18	Taux de mortalité des daphnies (%) en fonction du temps (heures) et aux différentes concentrations du nano TiO ₂ .	44

19	La mortalité des daphnies traitées par le nano TiO ₂ aux différentes concentrations et dans le temps.	45
20	Variation de la longévité moyenne de <i>Daphnia</i> contaminées au nano TiO ₂ en fonction des concentrations utilisées	46
21	L'âge à la maturation des daphnies pour les différentes concentrations de TiO ₂	46
22	La variation de la grandeur de ponte moyenne pour les différentes concentrations de TiO ₂	47
23	l'accumulation de l'oxyde de fer dans le tube digestif de <i>Daphnia magna</i> (cas de 10 mg/l à gauche et 50 mg/l à droite)	48
24	l'accumulation de l'oxyde de titane dans le tube digestif de <i>Daphnia magna</i> (cas de 10 mg/l à gauche et 100 mg/l à droite)	48

Listes des tableaux

tableau	titre	page
I	Principales applications des nanoparticules dans différents secteurs	5

INTRODUCTION

The word "INTRODUCTION" is rendered in a bold, sans-serif font with a blue-to-white gradient. The letters have a slight 3D effect, with a soft shadow cast to the right and slightly forward. The text is centered horizontally and positioned in the lower-middle section of the page.

INTRODUCTION

Depuis un peu plus d'une dizaine d'années, les nanotechnologies suscitent l'engouement des scientifiques et des industriels du monde entier. En effet, la manipulation de la matière à l'échelle du nanomètre ouvre de nouvelles portes et d'infinies possibilités dans de nombreux domaines très variés comme l'industrie, la médecine ou encore le développement durable, pour ne citer qu'eux (Suzane et Pierre D., 2011)

Ces nanotechnologies emploient de grandes quantités de nanomatériaux dont les caractéristiques peuvent être très différentes, générant ainsi l'apparition de toute une nouvelle classe de matériaux aux propriétés très particulières. Les nouvelles propriétés exhibées par les nanomatériaux sont également une source d'interrogations quant à une toxicité différente. Ainsi, en parallèle du développement des nanotechnologies, a débuté l'étude de la toxicité des nanomatériaux et avec quelques années de retard, l'étude de leur écotoxicité. La mise sur le marché de produits contenant (officiellement) des nanomatériaux est passée de 54 en 2005 à 1317 en 2011 (Camille L., 2011, Nanna B. Hartmann et al., 2012) Cette forte augmentation est aussi synonyme d'une production accrue de nanomatériaux et donc d'un risque plus important d'accidents lors de la production ou du transport qui pourraient mener à une pollution de l'environnement.

Le cycle de vie de ces produits à base de nanomatériaux pourrait aussi être à l'origine d'une contamination chronique de l'eau, du sol et de l'air ambiant.

Enfin, la dissémination volontaire de nanomatériaux dans l'environnement est aujourd'hui avérée, notamment pour la remédiation de sites pollués.

Dans ce cadre, il est donc primordial de répondre à la question de l'impact de ces nanomatériaux sur l'environnement (Hun Je Jo et al., 2012).

Plusieurs chercheurs ont été conduits à proposer des indices biotiques (*Daphnia magna*) basées sur l'évaluation de la richesse spécifique et traduisant la qualité des eaux superficielles. *Daphnia magna*, dans les conditions de perturbation, permet de servir comme signal d'alarme. Le développement du bio indicateur ouvre ainsi la voie à une surveillance, plus large et écologique intégrant les effets sur l'environnement grâce à des organismes sentinelles.

Pour une meilleure élaboration des scénarii résultant de l'exposition des espèces vivantes aux nanoparticules (cas d'oxyde de titane et l'oxyde de fer), nous présentons l'effet aiguë et chronique des NP sur une espèce bio indicatrice (*Daphnia magna*) à travers les différents tests sur les paramètres de cycle de vie (taux de mortalité, tailles des juvéniles, grandeur de ponte... etc.).

- **Les objectifs méthodologiques** visent à évaluer de façon pertinente l'écotoxicité des nanomatériaux est la prise en compte de leurs caractéristiques physico-chimiques telles que la composition chimique, la forme, le diamètre nominal ou encore la phase cristalline.
- **Les objectifs d'amélioration de gestion** visent à exploiter les résultats de ce PFE en fournissant des recommandations aux acteurs en charge de la gestion des nanoparticules (responsables des hôpitaux et station d'épuration des eaux usées, collectivités locales et services de l'Etat en charge de contrôle des laboratoires de recherche et industries).

Dans cette optique nous avons structuré notre travail de la manière suivante :

- Le chapitre I est consacré à l'étude bibliographique sur les nanoparticules *dont l'objectif est de synthétiser les informations sur leur Apparition et développement, définition, Origine, Propriétés et leur aspect toxicologique et sanitaire ;*
- Le chapitre II présente une étude de la biologie de *Daphnia magna* ;
- Le chapitre III décrit le matériel utilisé et les méthodes appliquées ;
- Le chapitre IV traite les résultats, discussion et perspective.

CHAPITRE I

Les nanoparticules

1. Les nanomatériaux : enjeux, propriétés et risques

1.1. Apparition et développement des nanotechnologies :

Les concepts associés aux nanotechnologies ont été proposés pour la première fois en 1959 par le physicien Richard Feynman quand il évoquait l'infiniment petit. Ce dernier explorait la possibilité d'examiner et de manipuler les matériaux à l'échelle nanométrique, imaginant l'ensemble de *l'Encyclopaedia Britannica* écrit sur la tête d'une épingle. Cependant, le terme nanotechnologie ne fut utilisé pour la première fois qu'en 1974 lorsque Norio Taniguchi, un chercheur de l'Université de Tokyo, l'employa pour décrire la capacité de fabriquer des matériaux à l'échelle nanométrique. Depuis, les nanotechnologies représentent un secteur en pleine expansion puisque l'USF National Science Foundation estime que l'impact économique des nanotechnologies à travers le monde se chiffrera à plus de mille milliards de dollars d'ici à 2015, et générera plus de 2 millions d'emplois.

La production de nanomatériaux devrait ainsi connaître une croissance exponentielle dans les prochaines années. Ils touchent déjà de très nombreux secteurs : la production d'énergie, l'électronique, la médecine, l'agro-alimentaire, l'aéronautique, l'automobile, la construction ou encore la cosmétique ([Tableau 1](#)).

Tableau 1. Principales applications des nanoparticules dans différents secteurs

Nanoparticules	Propriétés	Applications	Secteurs
C60	conductivité	Fil conducteur, transistor, diode	Electronique
	résistance	amélioration performance des raquettes	Sport
Nanotube de carbone	résistance	résistance mécanique et imperméabilité	Textile
	adsorption	traitement eau potable/ pollution	Environnement
Noir de carbone	résistance	élastomère	Matériaux
	isolant	électronique	Electronique
Silice	antiagglomérant	additif	Alimentation
	poreux	nanovecteur-délivrance ciblée de médicaments	Santé, pharmacie
	adhérence	pneu	Automobile
Argent	antibactérien	vêtements	Textile
		pansements	Santé, pharmacie

Dioxyde de Titane	pigment	dentifrice	Cosmétique
	anti UV	crème solaire	
Oxyde d'Aluminium	pigment	peinture	Matériaux
	photocatalytiques	vitrage/béton autonettoyant	
Oxyde de Fer	adsorption	traitement eau potable/ pollution	Environnement
	catalyse	traitement eau potable/ pollution	
Oxyde de Fer	adsorption/magnétique	traitement eau potable/ pollution	Environnement
Oxyde de zinc	anti UV	crème solaire	Cosmétique
	anti vieillissement	soin pour la peau	

En effet, les nanotechnologies ont un impact sur l'économie mondiale du fait de leurs applications dans un grand nombre de secteurs. Le marché global des produits issus des nanotechnologies est en pleine expansion avec 11,7 milliards de dollars en 2009, il devrait atteindre plus de 26 milliards de dollars en 2015 avec un taux de croissance annuel de 11,1% ([AFSSET, 2010](#)) Le secteur majeur des nanotechnologies qui concerne les nanomatériaux représentait 9 milliards de dollars en 2009 et devrait atteindre 19.7 milliards de dollars en 2015 avec un taux de croissance annuel de 14,7% ([BBC Research, 2010](#)) [1].

L'utilisation des nanosciences dans les produits de consommation est en plein essor avec seulement 212 produits contenant des nanomatériaux manufacturés en mars 2006 pour atteindre plus de 1317 produits en mars 2011 ([Figure. 1](#)). Si la tendance actuelle continue, le nombre de produits pourrait atteindre 3400 d'ici 2020 ([Nanotechproject, 2011b](#)) [2].

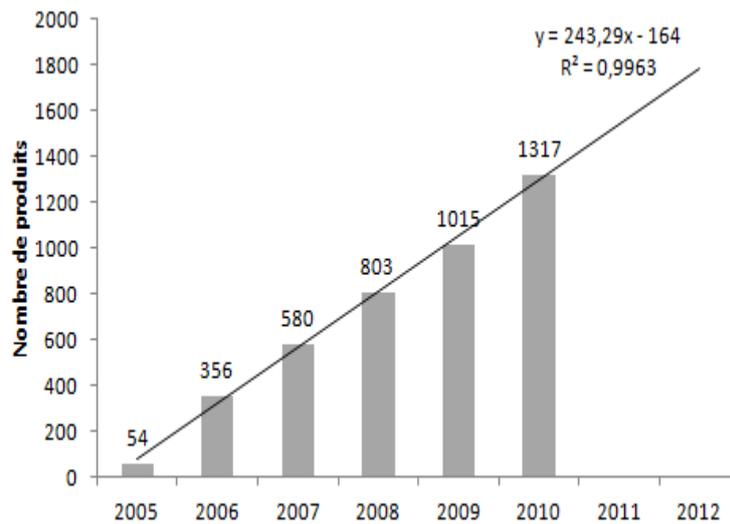


Figure 1. Nombre total de produits contenant des nanomatériaux manufacturés au 10/03/11 (Nanotechproject, 2011b) [2]

Le matériau le plus utilisé dans les produits manufacturés est l'argent suivi du carbone (y compris les fullerènes) et du titane (TiO_2) (Fig.2). Les plus grandes utilisations industrielles actuelles sont liées à la fabrication des pneumatiques (oxyde de silicium) et pour la formulation des cosmétiques, avec une consommation dépassant 1000 tonnes par an (principalement d'oxyde de titane) (Witschger O et al., 2005) Les autres usages actuels semblent ne pas dépasser chacun 10 tonnes par an, mais sont promis à une forte croissance. Les nanoparticules Ag présentent l'avantage d'être utilisées dans différents secteurs et d'avoir une production maîtrisée.

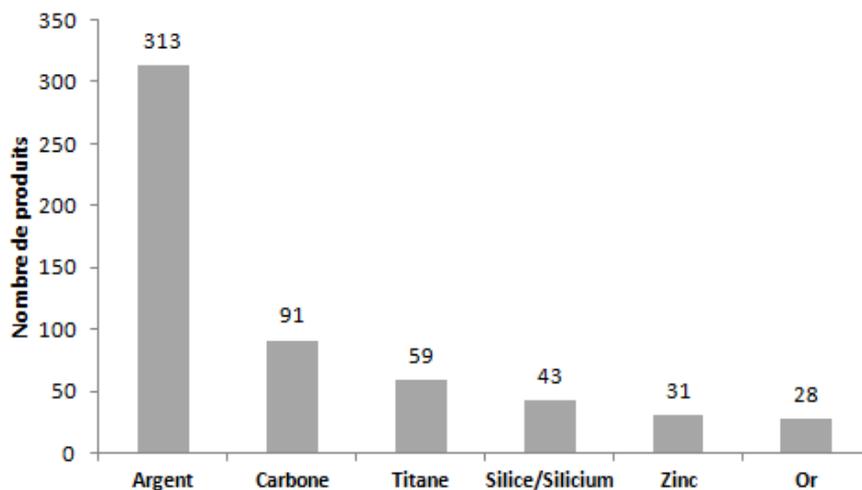


Figure 2. Nombre de produits manufacturés contenant chaque type de matériaux au 10/03/11 (Nanotechproject, 2011a) [3]

1.2. Présentation :

1.2.1. Définitions :

Nanométrie : domaine de dimension compris entre 1 et 100 nm (ISO/TS 27687, 2008).

Nano-objets: matériaux présentant une, deux ou trois dimensions externes de taille nanométrique (ISO/TS 27687, 2008).

Nanoparticules : nano-objets dont les trois dimensions externes sont de taille nanométrique (ISO/TS 27687, 2008).

Nanomatériaux : matériaux dont les dimensions externes sont à l'échelle nanométrique ou possédante une structure interne ou surface à l'échelle nanométrique (ISO/TS 80004-1, 2010). Plus récemment (18/10/2011), les nanomatériaux ont été définis comme suit par la Communauté Européenne :

- un matériau naturel, forme accidentellement ou manufacture,
- contenant des particules libres, sous forme d'agrégat ou sous forme d'agglomérat (figure 3),
- dont au moins 50 % des particules, dans la répartition numérique par taille, présentent une ou plusieurs dimensions externes se situant entre 1 nm et 100 nm.

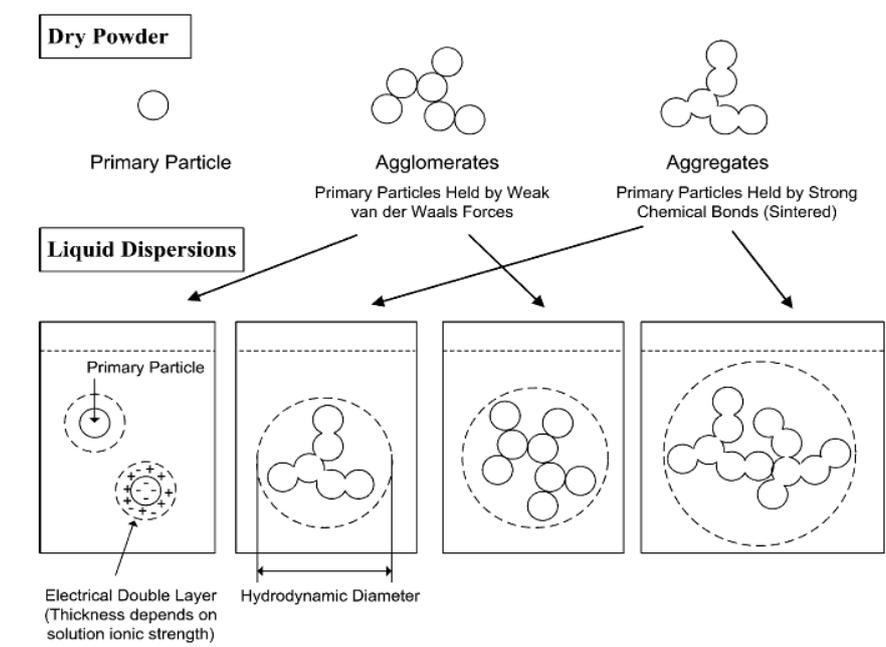


Figure 3. Différents états de configuration des particules à l'état de poudre et dispersé en milieu liquide (Jiang et al., 2009)

De plus, on distingue les NPs qui comprennent leurs trois dimensions dans le domaine nanométrique, les nano-plaques qui n'ont qu'une dimension nanométrique et les nanofibres qui sont des nanomatériaux présentant deux dimensions nanométriques, la troisième

dimension étant plus longue de façon significative. On parle souvent de NPs au sens large, c'est-à-dire en y incluant les nanomatériaux de type nanotubes.

Les trois catégories principales de nanomatériaux sont présentées sur la figure 4 (Hansen et al, 2007).

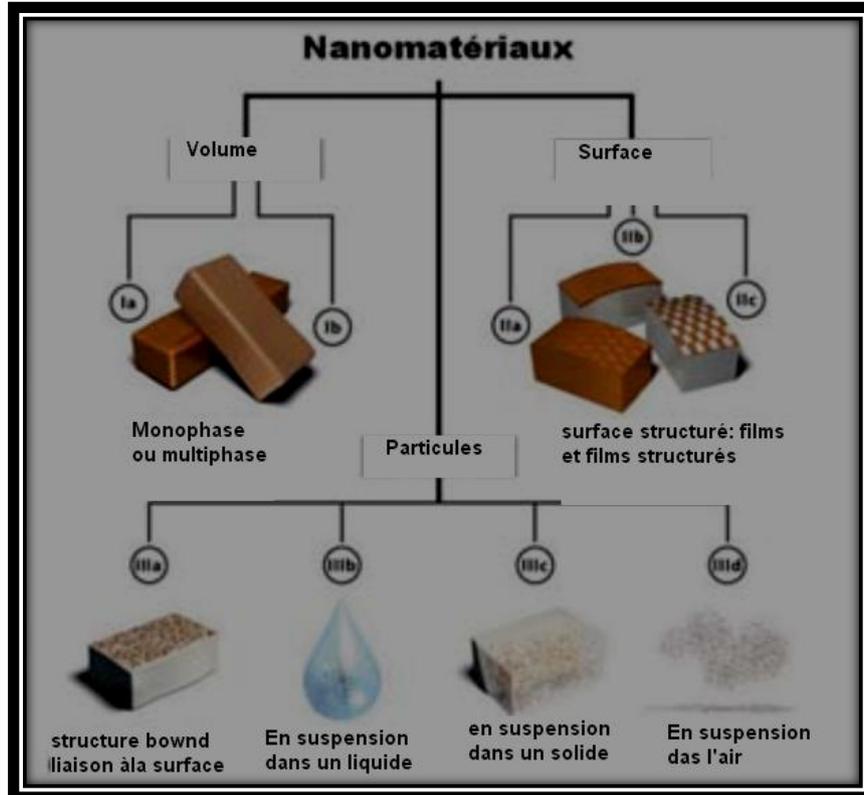


Figure 4. Classification des nanomatériaux selon la localisation de la nanostructure dans le matériau (Hansen et al., 2007)

Nanocomposés: composés multiphasiques dans lesquels au moins une des phases a une taille nanométrique (Ajayan et al., 2003).

Pour resituer le domaine nanométrique, l'ADN mesure 2,5 nm, un globule rouge 7000 nm et l'épaisseur d'un cheveu atteint 80 000 nm (OMS, 2008).

La figure 1 présente à titre de comparaison la dimension de différents types de nanoparticules (entre 1 et 100 nanomètres) tels les virus, qui ont des dimensions autour de 10 nm, et d'autres particules issues des combustions et transformations chimiques (Hidy G.M., 1971).

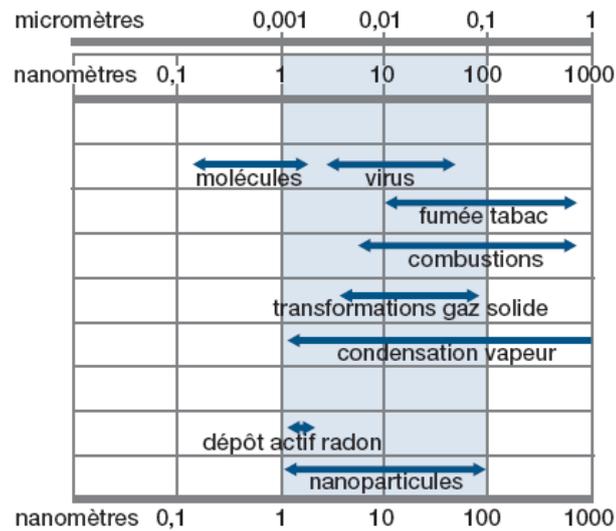


Figure 5 : Distribution en taille de différents types de particules
Incluant les nanoparticules (AFSSET, 2010).

1.2.2. Origine naturelle et/ou anthropique et dissémination dans l'environnement :

Les nanoparticules sont présentes de manière ubiquitaire et sont généralement désignées sous le terme « particules ultra-fines ». On peut classer les NPs en deux catégories selon leurs origines : les NPs manufacturées, c'est-à-dire produites intentionnellement, et les autres NPs dites "accidentelles " qui peuvent, elles-mêmes, avoir deux sources : soit anthropogénique (non intentionnelles), elles sont alors des coproduits de procédés industriels (Aschberger, K et al 2011) la combustion, le chauffage, les rejets de diesel, les fumées de tabac... (Buzea et al., 2007); soit naturelle, elles sont produites lors de feux de forêt (Buzea et al., 2007 ;Aschberger, K et al 2011) ou d'éruptions volcaniques par exemple (Aschberger, K et al 2011) ,des aérosols marins et de l'érosion des sols(Buzea et al., 2007).

Lors de contaminations, l'écosystème se trouve au centre des flux de polluants puisqu'il est à la fois un compartiment puits qui reçoit les contaminations mais également un compartiment source qui peut transmettre la pollution vers d'autres compartiments jusqu'à la population (Figure 6). Du fait de leur petite taille, les NPs sont susceptibles d'être très mobiles dans l'environnement et donc d'être aisément transférées d'un milieu à l'autre et vers les populations animales ou végétales.

Une équipe de chercheurs suisses (Mueller and Nowack, 2008; Gottschalk *et al.*, 2009) a réalisé des simulations pour estimer la quantité de nanomatériaux susceptible de s'accumuler dans l'environnement. D'après leur modélisation en 2008, le nanomatériau le plus préoccupant en termes de concentrations dans l'environnement est le TiO₂. Il s'accumulerait à

hauteur de 16 $\mu\text{g TiO}_2/\text{L}$ dans les eaux de surface, 4 $\mu\text{g TiO}_2/\text{L}$ dans les effluents de station d'épuration et sa teneur dans les sols amendés par des boues de stations d'épuration augmenterait de 89 $\mu\text{g TiO}_2/\text{kg}$ tous les ans (Camille L., 2011).

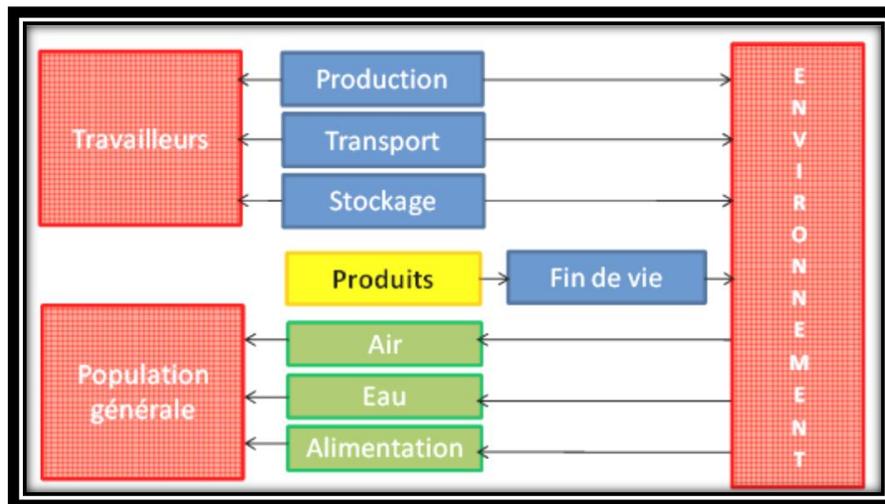


Figure 6 : Voies potentielles d'exposition aux nanomatériaux (AFSSET,2010)

Les nanomatériaux manufacturés correspondent à des matériaux intentionnellement produits avec des particules nanométriques. Il existe actuellement 2 méthodes de production des nanomatériaux :

- l'approche ascendante ou de bas en haut (« *bottom-up* »), qui correspond à l'assemblage à partir des éléments de base de la matière, atome par atome ou molécule par molécule, pour construire des systèmes plus grands. Les techniques pour la méthode ascendante sont l'auto-assemblage, l'érosion laser, la pyrolyse laser ou la synthèse chimique;
- l'approche descendante ou de haut en bas (« *top-down* »), qui correspond à la réduction des matériaux existant à des dimensions nanométriques, est réalisée en utilisant les techniques de broyage, compactage ou frittage.

1.3. Propriétés des nanomatériaux :

La très petite taille des nanomatériaux entraîne l'apparition de nouvelles propriétés inconnues sur le même matériau de taille micrométrique ou supérieure. En effet, à partir d'une certaine taille les propriétés des matériaux sont régies par les **effets quantiques**, d'où ce changement de comportement. Lorsque la taille des particules diminue, le nombre de particules par unité de masse augmente considérablement : ce nombre est multiplié par 1.000.000 lorsque le diamètre passe de 100 à 1 nm. En parallèle, la surface de contact entre particules et environnement est multipliée par un facteur 100. En effet, plus une particule est petite, plus la proportion de ces atomes en surface est importante. Ainsi, une particule de 30 nm possèdera

5% de ses atomes en surface alors qu'une particule de 4 nm en aura environ 50%. Cela signifie également que plus une particule est petite, plus sa réactivité de surface est élevée (Figure 7) (Auffan *et al.*, 2009).

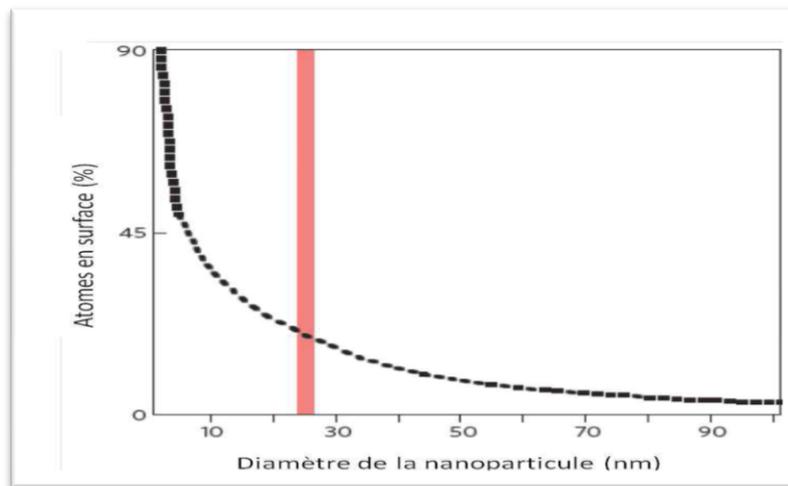


Figure 07 : Illustration de la proportion d'atomes en surface de la NP en fonction de son diamètre (Auffan *et al.*, 2009)

En plus d'une réactivité accrue, d'autres propriétés peuvent apparaître à cette échelle, absentes à l'échelle micro ou macroscopique : conductivité électrique, élasticité, solidité accrues ou encore changement de couleur. Ainsi, par exemple, sous forme de graphite (mine de crayon), le carbone est tendre et malléable alors qu'à l'échelle nanométrique, il est plus solide que l'acier et six fois plus léger. De même, l'oxyde de zinc qui est normalement blanc et opaque, devient transparent à l'échelle nanométrique (Aschberger, K *et al.*, 2011)

2. Aspect toxicologique et sanitaire :

L'impact potentiel sur la santé de l'exposition aux nanoparticules manufacturées est actuellement encore peu évalué. Les éléments dont on dispose peuvent être regroupés en deux grandes catégories : les données expérimentales et les données humaines.

Il importe au préalable de rappeler que les recherches disponibles et/ou en cours sur les effets sanitaires des nanoparticules manufacturées portent, pour la quasi-totalité, sur 3 types de particules :

- Des **mélanges de nanoparticules prélevées dans l'atmosphère** : en rapport avec la pollution urbaine ou avec certains environnements industriels (autrement appelées particules ultrafines). Ces études prennent en compte des nanoparticules associées aux autres composants des aérosols complexes indissociables les uns des autres du fait des modalités de leur génération. C'est le cas de la fraction ultrafine de la pollution

atmosphérique ou des aérosols prélevés à proximité immédiate de leurs sources (particules diesel, fumées de soudage, cendres volantes, ROFA (*Residual Oil Fly Ashes*), métaux adsorbés à leur surface dans les particules diesels ([AFSSET, 2010](#)).

- Des **nanoparticules synthétisées spécifiquement en vue de recherches toxicologiques** : et ayant des caractéristiques se rapprochant des nanoparticules manufacturées ou de celles générées spontanément ; il s'agit de particules carbonées (noir de carbone, carbone élémentaire), de particules métalliques, de céramiques ou de polymères ;
- Des **nanoparticules manufacturées** : fournies par les industries de production ou les laboratoires de recherche qui travaillent pour ces industries (fullerènes, nanotubes de carbone, certains oxydes métalliques (titane, zinc, etc.).

Une difficulté dans l'analyse des effets des nanoparticules manufacturées vient de leur instabilité entre le moment où elles sont générées et celui où elles entrent en contact avec l'homme, 2 phénomènes difficiles à contrôler (car peu reproductibles) dans les modèles expérimentaux, peuvent se produire :

- l'agrégation ou l'agglomération des particules entre elles, modifiant la distribution granulométrique des échantillons ;
- l'adsorption de substances chimiques présentes dans les milieux où sont préparés et utilisés les particules testées (atmosphère, milieu de culture cellulaire ...) en raison de la grande réactivité de surface qui caractérise les nanoparticules indépendamment de leur composition initiale.

La toxicologie des particules n'est pas une science nouvelle, comme en témoignent tous les travaux publiés tant sur des particules bien caractérisées (silice cristalline, amiante...) que sur des mélanges complexes résultant de la pollution atmosphérique ([Asli, Set Neumann, P.M., 2009](#)). Jusque dans les années 90, l'attention des chercheurs était focalisée sur cinq paramètres prédictifs d'un effet pathogène sur **l'appareil respiratoire** :

- la **taille**, qui détermine les modalités de pénétration et de déposition dans les voies aériennes ; elle est utilisée pour construire les normes d'exposition en milieu industriel [particules respirables ou alvéolaires de moins de 5 μm] ou dans l'environnement général [particules de moins de 10 μm de diamètre : PM10, ou de moins de 2,5 μm : PM2,5] ;
- la **forme**, avec la mise en évidence de l'effet «fibre», induit par les particules longues [longueur > 8 μm] et fines [diamètre < 0,25 μm], indépendamment de leur composition chimique ;
- la **biopersistance**, assimilée au temps de rétention dans l'appareil respiratoire, paramètre utilisé dans le classement des fibres minérales synthétiques ;
- la **structure cristalline** éventuelle pour les particules minérales ;

- la **composition chimique** (chimie globale, chimie de surface et contamination).

Ce n'est qu'à partir de 1994 que l'influence de la très petite taille des particules sur les effets biologiques au niveau cellulaire et tissulaire a été évoquée : pour une même masse de particules dans l'air, les effets biologiques des particules de dioxyde de titane (TiO₂) étaient significativement plus importants lorsque la matière était divisée en particules de 20 nm que lorsqu'elle était sous forme de particules de 200 nm (AFSSET, 2010).

Depuis cette constatation, de nombreuses publications scientifiques ont contribué à mieux décrire les effets potentiels des nanoparticules sphériques ou allongées. Plusieurs difficultés majeures rendent cependant l'analyse de la littérature scientifique disponible sur ce sujet encore délicate :

- la caractérisation physico-chimique souvent incomplète des particules testées ou analysées ;
- l'expression très discutable de la dose externe ou interne (en masse la plupart du temps) ;
- l'absence de classement des particules permettant des regroupements des données disponibles ;
- une absence de standardisation des méthodes de production des particules et de mesure des effets rendant difficile la comparaison des études entre elles.

Dans la pratique, chaque type de nanoparticule doit être actuellement considérée comme unique et devrait faire l'objet d'une investigation toxicologique spécifique indépendante des tests toxicologiques traditionnels déjà réalisés sur les espèces chimiques entrant dans la composition de ces particules (Bradford A et al., 2009).

Il est important de souligner que, dans les études expérimentales, les niveaux de dose délivrés à la cellule sont souvent très élevés par rapport à ceux qui correspondraient aux expositions humaines.

2.1. Approche expérimentale

Les modèles expérimentaux représentent l'essentiel de nos connaissances dans le domaine des effets sanitaires des nanoparticules. On peut les classer en 2 catégories :

- les modèles *in vitro* (études réalisées sur des cellules isolées cultivées) ;
- les modèles *in vivo* (études réalisées sur l'animal entier) ou *ex vivo* (études réalisées sur des tissus isolés).

2.1.1. Les modèles *in vitro* :

Les modèles *in vitro* étudient l'interaction entre les particules et les cellules cultivées, et la réponse biologique qui en résulte. A masse égale, trois résultats clés ont été obtenus :

- à composition chimique et forme identiques, la réponse biologique (stress oxydant, réponses pro-inflammatoires ou cytotoxiques, transformation cellulaire) augmente avec la surface spécifique des particules. Ainsi, des particules sphériques de dioxyde de titane ou de carbone (graphite) de taille micrométrique n'entraînent pas de réponse biologique significative, alors que les mêmes particules de taille nanométrique entraînent, pour des concentrations pondérales équivalentes dans l'air ou le milieu de culture, des réponses biologiques mesurables.

- à composition chimique et dimensions identiques, la réponse biologique augmente lorsque la forme de la particule s'allonge : ainsi les nanotubes de carbone sont plus réactifs que les nanosphères de carbone de diamètre aérodynamique équivalent (rappelant l'effet fibre déjà évoqué, probablement lié à un dysfonctionnement de la fonction phagocytaire des macrophages, elle-même secondaire à la longueur trop importante des fibres par rapport à la taille des cellules) ([AFSSET, 2010](#)).

- à dimensions et forme données, la réponse biologique dépend de la composition chimique de la particule, soit du fait de la solubilisation partielle d'espèces chimiques toxiques (métaux de transition en particulier), soit du fait du nombre et de la nature des sites réactifs de surface disponibles au moment du contact entre la particule et les membranes biologiques. Une réponse chimique peut être induite par la désorption de xénobiotiques adsorbés à la surface de la particule (traces métallique, qui peuvent atteindre quelques pourcents, en rapport avec les catalyseurs utilisés pour produire les nanoparticules, composés organiques piégés sur les particules à un stade variable de sa synthèse ou de son séjour dans l'atmosphère) ([Camille L., 2011](#)).

Les mécanismes moléculaires de ces effets sont encore mal compris, mais il existe des arguments pour évoquer un stress oxydatif cellulaire et la formation de médiateurs cellulaires de l'inflammation. Trois voies principales ont été identifiées dans le déclenchement de cette réponse :

- la stimulation directe de récepteurs protéiques de membranes par la particule ;
- la lipoperoxydation des phospholipides membranaires par les radicaux libres générés à la surface de la particule ;
- l'altération directe de composants intra cytoplasmiques, intra mitochondriaux ou intra nucléaires après internalisation des nanoparticules.

Par ailleurs des effets non spécifiques ont été observés, en rapport avec des anomalies des mécanismes de l'internalisation (phagocytose) des particules,

- soit du fait de la saturation des capacités cellulaires de phagocytose (effet de surcharge, en anglais «*overload effect*»);

- soit du fait d'une phagocytose incomplète ou «contrariée» de particules très allongées (effet fibre).

En effet ;Chez les *organismes aquatiques* les effets des contaminants sur les protéines de détoxification sont évalués par des analyses biochimiques mesurant les activités des enzymes antioxydantes (Saint-Denis et al., 1999; Hao et al., 2009; LaCourse et al., 2009; Xiong et al., 2011; Posgai et al., *in press*) ou par des analyses de biologie moléculaire évaluant le niveau d'expression des ARNm des gènes codant pour les protéines des systèmes antioxydant et de détoxification des organismes étudiés (Usenko et al., 2008; Roh et al., 2010; Chen et al., 2011), les résultats ont montré une perturbation hautement significative pour la GST, HSP70. (Usenko et al., 2008 ;Chen et al., 2011), l'expression de la CAT et de la GPx (Choi et al., 2010 ; Canesi et al., 2010), MT(Ringwood et al., 2010 ;Chen et al., 2011). Ainsi une induction de l'activité des lysozymes (production d'ERO) et destabilisation membranaire de ces derniers (Canesi et al., 2010a), augmentation de la lipoperoxydation, du taux de glutathion et une diminution de l'activité Na⁺K⁺- ATPase dans les branchies (truite) (Federici et al., 2007). Ces modifications physiologiques du poisson semblent être expliquées par le stress oxydant généré par les NP. Bien que des effets toxiques soient observés (Federici et al., 2007).

2.1.2. Les modèles *in vivo* et *ex vivo* :

Les modèles *in vivo* et *ex vivo* sont plus difficilement mis en œuvre dans les études portant sur les nanoparticules, du fait de leur coût (très peu de recherches de ce type dans les laboratoires publics) et des problèmes rencontrés dans la génération d'un aérosol nanométrique stable (problèmes liés à l'aggrégation ou l'agglomération rapide de certaines nanoparticules fraîchement émises).

Les conclusions sont cohérentes avec celles des modèles *in vitro* qu'elles confortent.

Elles permettent de préciser certains types de réponses tissulaires (inflammation, fibrose) et systémiques (réponse cardio-vasculaire, réponse du système nerveux central). Elles ne permettent pas actuellement de répondre formellement à un éventuel effet cancérigène.

Ces conclusions apportent des informations complémentaires sur les modalités de pénétration des nanoparticules dans l'organisme animal, en particulier l'existence des passages suivants :

- transcutané ;
- vers le système nerveux central via le nerf olfactif ;
- à travers la barrière alvéolo-capillaire pulmonaire ;
- transplacentaire ;
- à travers la muqueuse intestinale ;
- à travers la barrière hémato-encéphalique.

Au final, les mécanismes d'action pathogènes dépendent de la pénétration, du passage de barrière, d'éventuels changements des réactivités chimiques et biochimiques dus à la taille, de l'effet vecteur des nanoparticules vis-à-vis d'autres xénobiotiques provenant de sources environnementales ([AFSSET, 2010](#)).

2.2. Approche chez l'homme

Les résultats des études expérimentales chez l'animal ne sont pas directement transposables à l'homme (réponse cellulaire versus réponse tissulaire, extrapolation inter espèces, niveaux de dose irréalistes par rapport aux expositions chez l'homme). C'est la raison pour laquelle les quelques études disponibles chez l'homme sont importantes. On dispose de 3 types d'études

2.2.1. Etude d'effet des nanomatériaux sur le système antioxydant :

En effet, les particules d'AgNO₃ induisent une augmentation de l'expression des ARNm de la MT, GPx, SOD et CAT alors que les NP d'Ag (<10 nm) induisent uniquement une augmentation de l'expression de la SOD et de la catalase des hépatocytes **humain** (HepG2) ([Kim et al., 2009b](#)). Les effets des NP TiO₂ ont été également étudiés sur l'expression des ARNm des gènes antioxydants et de détoxification chez l'homme.

2.2.2. Particules ultrafines, pollution atmosphérique et effets sur la santé :

Il existe actuellement de nombreux arguments pour mettre en cause la phase particulaire de l'atmosphère dans les effets aigus et chroniques de la pollution en milieu urbain et dans certains milieux professionnels ([Maynard AD et al., 2002](#). [Pekkanen Jet al., 2004](#)).

De plus sont apparues dans la littérature récente des séries cliniques très intéressantes qui montrent une corrélation statistique entre l'exposition aux particules ultrafines atmosphériques et certains paramètres biologiques ou fonctionnels. La signification réelle de ces résultats reste ouverte à discussion puisqu'il n'est pas possible de prendre en compte individuellement tous les facteurs qui interviennent (mélanges de particules, contaminants gazeux). Néanmoins ces données humaines sont très cohérentes avec les données expérimentales rappelées plus haut. On peut les regrouper schématiquement en fonction des effets mesurés :

- effets cardiovasculaires et thrombogènes, majorés chez les sujets ayant une insuffisance coronarienne ([Gold DR et al ., 2000](#) . [Delfino RJ et al., 2004](#)) ;
- effets sur la fonction respiratoire des asthmatiques ([Penttinen P et al., 2001](#). [Penttinen P et al., 2001](#). [von Klot S et al ., 2002](#). [Delfino RJ et al., 2005](#). [Lwebuga-Mukasa JS et al ., 2005](#))
- effets sur la perméabilité épithéliale bronchique ([Timonen KL et al., 2004](#)) .

3. Nanomatériaux utilisés pour ce PFE:

Les trois nanomatériaux les plus produits au niveau mondial sont à base d'argent, de carbone et de titane. Nous avons choisi de focaliser cette étude sur les le TiO_2 et le Fe_2O_3 . Nous pourrions donc mettre en évidence une éventuelle influence de ces deux caractéristiques sur l'impact des nanomatériaux sur les crustacés d'eaux douces (*Daphnia magna*).

3.1. Les Nanoparticules de dioxyde de titane (TiO_2) :

Le TiO_2 est un constituant naturel des écosystèmes, cependant dans ceux-ci il est rarement à l'état nanoparticulaire. On le retrouve à hauteur de 0,5% dans la croûte terrestre et dans les sols avec l'existence de fortes disparités (Aschberger, K et al 2011) Il existe sous différentes formes cristallines (anatase, rutile, brookite et ilmenite). Cet arrangement particulier des atomes dans l'espace confère des propriétés spécifiques à chacune des phases. Dans les minerais, le titane et le fer se trouvent souvent associés sous forme d'oxydes mixtes.

Dans la nature, le titane est le plus souvent sous sa forme **rutile**. Cette forme correspond à un arrangement tétragonal des atomes (Figure 8A). On le trouve alors dans les roches magmatiques et métamorphiques. Il prend une couleur rouge (Figure 8B).

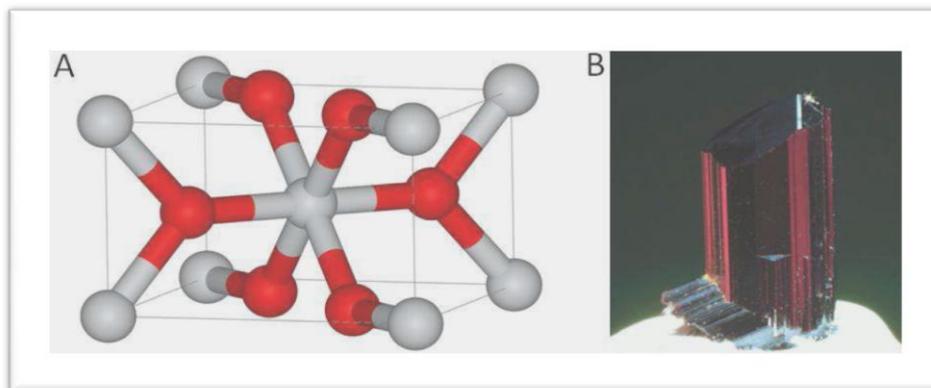


Figure 8. Arrangement tétragonal des atomes **rutile** (7A) ; **rutile** magmatiques (B)

Il peut être produit à partir de minerai contenant du titane comme l'ilmenite (FeTiO_3). La méthode la plus courante de production de dioxyde de titane sous ses 3 formes cristallines est l'utilisation du tétrachlorure de titane (TiCl_4). Les principaux pays producteurs de minerais de titane sont les Etats-Unis, le Canada, l'Australie, la Chine, l'Inde, l'Afrique du Sud et la Norvège (EPA, 2010). Les NP de TiO_2 sont photocatalytiques et sont capables d'absorber les UV. Ainsi, elles sont utilisées dans un grand nombre de produits comme les crèmes solaires, les vêtements, les piles solaires, les peintures, les vitrages et les ciments autonettoyants ou dans les systèmes de traitement des eaux potables. Cependant, les particules de dioxyde de

titane ont été classées par l'IARC ([International Agency for Research on Cancer](#)) en 2006 dans le groupe des carcinogènes 2B, c'est à dire des carcinogènes possibles pour l'Homme.

2.1.1. Les effets toxicologiques de TiO₂ :

Le TiO₂ génère la production d'espèces réactives à l'oxygène (ERO) via les propriétés photocatalytiques et la réaction de Fenton ([Valko et al., 2006](#)). Les principales ERO produites sont : l'anion superoxyde (O₂⁻), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le radical hydroxyle (OH[•]) ([Figure 9](#)) ([Hoffmann et al., 1995](#)). Ces ERO peuvent induire la dégradation des polluants organiques mais aussi la lyse des cellules, lipides, protéines et des dommages à l'ADN.

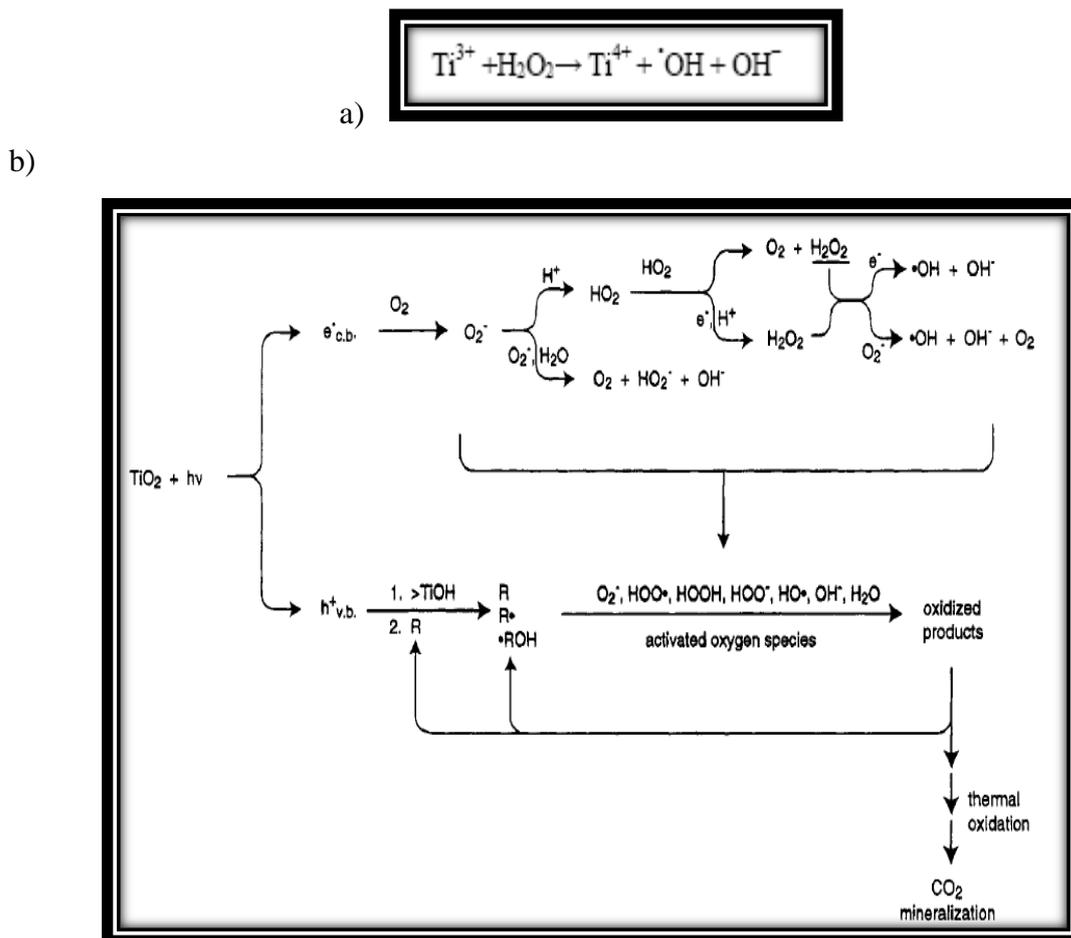


Figure 9. Espèces réactives à l'oxygène produites via la réaction de Fenton ([Valko et al., 2006](#)) et au cours de la photocatalyse du TiO₂ ([Hoffmann et al., 1995](#)).

Plusieurs études ont évalué l'effet des UV sur la production de ERO par les NP de TiO₂ ([Zhang et Sun, 2004](#); [Gurr et al., 2005](#); [Sayes et al., 2006](#)). Les UV semblent activer le stress oxydant avec l'augmentation des effets cytotoxiques des NP de TiO₂ anatase ou rutile ([Zhang et Sun, 2004](#); [Sayes et al., 2006](#)). En revanche, il a été montré que des NP de 10 et 20 nm (anatase) induisent une augmentation de la production de peroxyde d'hydrogène et d'acide

nitrique dans des cellules pulmonaires, à l'obscurité en l'absence de photocatalyse (Gurr et al., 2005). Ces ERO, issues du stress oxydant des NP, seraient responsables d'altérations de la cellule telles que la génotoxicité ou la lipoperoxydation. Ces effets ne sont pas observés avec des NP de forme cristalline anatase de plus grande taille (200 nm). La petite taille des NP (10 et 20 nm) et leurs fortes réactivités de surface pourraient expliquer la plus grande capacité des NP à produire un stress oxydant en l'absence de photoactivation (Gurr et al., 2005). En plus des propriétés photocatalytiques, la production d'ERO dépend de la forme cristalline des NP de TiO₂ (Sayes et al., 2006; Jacobs J et al., 2010).

Selon le type d'application des NP de TiO₂, l'enrobage est nécessaire pour réduire la production de radicaux libres due à la photocatalyse. L'aluminium, la silice, le siméthicone ou le diméthicone sont des enrobants qui permettent d'améliorer la photo stabilité des NP de TiO₂. Il existe donc différents types de NP de TiO₂ avec différentes propriétés physicochimique selon la taille, la forme cristalline, la pureté (enrobage ou non), ou la réactivité de surface. L'enrobage des NP est un autre paramètre qui peut réduire la capacité du TiO₂ à produire des ERO (Carlotti et al., 2009).

2.1.2. L'impact de (TiO₂) sur l'environnement :

Les principales sources de contamination de l'environnement sont les eaux usées, les boues de stations d'épuration et les déchets solides (EPA 2010). Les nanocomposés de TiO₂ libèrent des nanoparticules de TiO₂ mais aussi des résidus ou sous-produits d'altération au cours de leur cycle de vie (Reijnders, 2009, Botta et al., 2011) ont montré que les crèmes solaires induisent la production de résidus de nanoparticules de TiO₂ qui tendent à s'agréger et sédimenter au cours de leur cycle de vie. Le processus d'altération des nanocomposés de TiO₂, utilisés dans les crèmes solaires, a été mimé pour produire des sous-produits d'altération de TiO₂ qui se sont révélés être stables en suspension dans l'eau (Auffan et al., 2010; Labille et al., 2010). Il a été montré que les propriétés photocatalytiques des nanoparticules de TiO₂ contenues dans les crèmes solaires sont conservées même après leur utilisation (Barker et Branch, 2008) et l'altération de leur enrobage.

Quelques études ont modélisé les concentrations prédites dans l'environnement du TiO₂ de taille nanométrique dans les différents compartiments : air, eau, sol, sédiments (Tab 1Annexe.). Les concentrations dans l'air sont très faibles de l'ordre du ng/m³, alors que celles dans l'eau varient de l'ordre du ng/l au µg/l (Mueller et Nowack, 2008; Gottschalk et al., 2009; Johnson et al., 2011). Les concentrations les plus fortes sont prédites dans les effluents, les boues de stations d'épuration et les sédiments. Les teneurs dans les sols sont de l'ordre de quelques µg/kg mais ils pourraient s'enrichir de 89 µg/kg en NP de TiO₂ chaque année dans le

cadre d'une usure et d'un recyclage classique des nanoproduits (Gottschalk et al., 2009). Il est possible que les concentrations augmentent lors de l'introduction volontaire dans l'environnement ou d'une dissémination accidentelle.

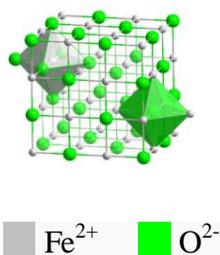
Contrairement aux milieux aquatiques, le suivi du devenir et du transport des NP de TiO_2 dans les sols est encore très peu étudié. Les principaux facteurs qui modifient l'état d'agrégation des nanoparticules sont la force ionique, la présence de matière organique naturelle, de cations divalents et le pH (Dunphy Guzman et al., 2006; Domingos et al., 2009; French et al., 2009; Solovitch et al., 2010). La mobilité des NP est généralement évaluée en utilisant des colonnes de sols (Fang et al., 2009; Solovitch et al., 2010). Cette technique permet d'apprécier la proportion de particules retenues par la matrice solide. La mobilité des particules dans les matrices solides poreuses dépend de la taille des nanoparticules (Lecoanet et al., 2004). D'après ces auteurs, la mobilité diminuerait quand la taille des NP augmente.

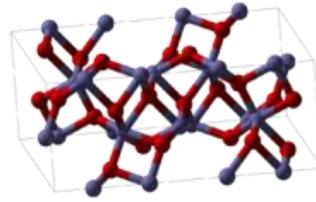
Les sols sont des matrices complexes qui peuvent retenir les NP de TiO_2 en fonction de la salinité, de la teneur en argile ou en carbone organique dissous (Fang et al., 2009). Les nanoparticules de TiO_2 traversent facilement les colonnes de sols constituées principalement de grosses particules (ex : sable) avec une faible force ionique, alors qu'elles sont fortement retenues dans les colonnes de sols avec des salinités et teneurs en argile élevées (Fang et al., 2009).

3.2. Les Nanoparticules de l'oxyde de fer :

Il en existe trois, différent par l'état d'oxydation de leurs atomes de fer :

- oxyde de fer(II) FeO , (figure 10 a) également appelé **oxyde ferreux**, et wustite sous sa forme minérale, poudre noire inflammable utilisée parfois dans la conception d'explosifs,
- oxyde de fer (II,III) Fe_3O_4 ou $\text{FeO}\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$, parfois appelé **oxyde magnétique**, et magnétite sous sa forme minérale (figure 10b),





a) **Oxyde de fer(II)** (Oxyde ferreux) . Formule brute FeO , insoluble (eau) b) Apparence et structure de l'hématite, $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

Figure 10 . Illustre 02 exemples d'oxyde de fer [4]

- oxyde de fer(III) Fe_2O_3 , également appelée **oxyde ferrique**, et se présentant sous quatre phases : $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ou hématite, de couleur grise lorsqu'elle est cristallisée, mais rouge à l'état pulvérulent ou amorphe, couleur caractéristique de la rouille ainsi que de la planète Mars, $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ou maghémite, $\varepsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$

3.2.1. Caractéristiques des oxydes de fer :

- Excellente tenue à la lumière et aux intempéries
- Haute résistance à l'eau, aux acides, aux alcalis
- Bon pouvoir colorant
- Pouvoir couvrant élevé

Les nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer (notamment la maghémite et la magnétite) sont considérées comme de bons adsorbants pour les raisons suivantes:

- Elles peuvent être produites en grandes quantités;
- Leurs capacités d'adsorption et leur affinité pour les polluants est plus élevée considérant leur grande surface spécifique et leur probable plus grande surface active;
- UN champ électromagnétique peut permettre de séparer de l'eau traitée la nanoparticule à laquelle est adsorbée un ion métallique;
- Les nanoparticules peuvent être régénérées et réutilisées ([Auffan et al., 2007](#)).

IL est important de rappeler que la réactivité caractérise l'affinité d'un adsorbât pour un adsorbant. La réactivité peut être la même par unité de surface pour des matériaux de surfaces spécifiques très différentes. La [figure 11](#) illustre ce point. En comparant la quantité adsorbée en millimole(s) par gramme d'adsorbant, celle-ci augmente lorsque la taille des particules diminue. Mais si la quantité adsorbée est normalisée par rapport à la surface des particules, il

est remarquable que la réactivité de particules soit identique pour des tailles allant de 300 à 20 nm, alors qu'une nette augmentation apparaît pour des particules de 10 nm.

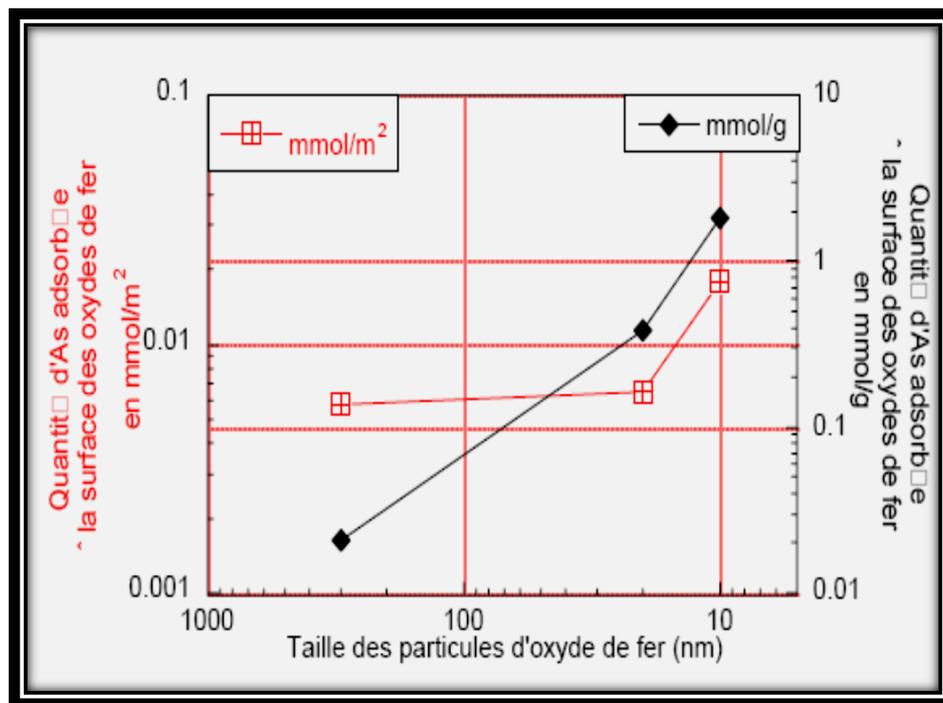


Figure.11. quantité d'arsenic adsorbée à la surface d'oxydes de fer (maghémite) en fonction de la taille des particules. [5]

Dans le cas de nanoparticules d'oxyde de fer recouvertes à la fois d'une couche de silice ainsi que d'une couche de polymère dont les cellules cancéreuses montrent une certaine facilité de captation. Cette particule mesure environ 70 nm, elles sont beaucoup plus petites que les liposomes. Une fois située dans la cellule cancéreuse la couche de polymère est absorbée par le milieu de la cellule, les nanoparticules de silice se retrouvent dans le cytoplasme. Alors on applique des ondes électromagnétiques qui vont causer l'agitation de ces particules. Le fonctionnement de la cellule cancéreuse se voit totalement dérégulé et provoque la mort de la cellule qui est éliminée par l'organisme. De plus ces nanoparticules métalliques servent également à la détection du cancer du fait qu'elles sont plus visibles dans les IRM. [6]

- La forme nanoparticulaire, dite *ultrasmall superparamagnetic iron oxide* ou USPIO); Après administration intraveineuse, étant moins capturés par le foie et la rate, ils ont une demi-vie plasmatique assez longue (plus de 36 heures). Les macrophages normalement présents dans les tissus (ganglions lymphatiques) ou en cas de pathologie (sclérose en plaque, rejet de greffe, plaque d'athérome, accident vasculaire cérébral, arthrite rhumatoïde...) peuvent les assimiler (B. Bonnemain et al., 2008). Ces oxydes sont, sous ces deux tailles différentes, solvant formulées avec du dextran ou ses dérivés (Oleg L et al., 2010).

- En dépit de risques suspectés pour la santé, les nanoparticules d'oxyde de fer sont approuvées par la [FDA](#) pour cet usage au regard du bénéfice qu'il apporte pour le diagnostic de certaines pathologies, grâce au champ magnétique local qu'ils génèrent (« effet [superparamagnétique](#) ») (Jesse L et al., 2011). Les oxydes métalliques nanoparticulaires semblent très intéressants comme produits de contraste (testés chez l'animal pour d'autres métaux), mais des « défis majeurs restent à relever en matière de sécurité et de questions de métabolisme » (Claire Cet al ., 2006; Tore Skotland, et al .,2010)

3.2.2. La toxicité des nanoparticules de l'oxyde de fer:

Une équipe de l'INERIS ([Institut national de l'environnement industriel et des risques](#)) a mis au point un modèle *d'in vitro* pour étudier la toxicité potentielle des nanoparticules et leur capacité à franchir cette barrière. Toutes ces particules induisent un stress oxydant plus ou moins marqué, très important pour les nanoparticules d'oxyde de fer (20 à 30 nm) [7].

- Les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3 et Fe_3O_4) sont utilisées dans des procédés industriels au cours desquels une exposition professionnelle peut se produire. Malgré cela, leurs propriétés toxicologiques n'ont pas été étudiées de manière approfondie. Afin d'améliorer nos connaissances sur leur toxicité pulmonaire, nous avons administré par instillation intratrachéale des particules d'oxyde de fer nano et submicrométriques à des rats pour induire une réponse inflammatoire pulmonaire persistante et une fibrose du poumon (comme le cas de silice), les particules d'oxyde de fer n'entraînaient une telle réponse que 24 heures (voire 7 jours pour les nanoparticules de Fe_2O_3) après l'instillation sans modification histopathologique notable du tissu pulmonaire. Les nanoparticules de Fe_2O_3 apparaissaient cependant plus inflammatoires que leurs équivalents submicrométriques. L'inverse était en revanche observé avec les particules de Fe_3O_4 .

Ces résultats suggèrent par ailleurs qu'il n'est pas possible d'émettre d'hypothèse généraliste sur l'influence de la taille et de la surface spécifique sur la toxicité des nanoparticules et qu'il est nécessaire en l'absence d'outils fiables d'étude de relation structure-activité de réaliser pour chaque nanoparticule une évaluation de ses propriétés toxicologiques [8].

- Un autre exemple des cellules pulmonaires humaines ([figure 11](#)) après une exposition de trois jours à des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3). Les cellules commencent à s'arrondir et à se détacher de leur support, un premier indice indiquant que ces particules d'oxyde de fer sont cytotoxiques.

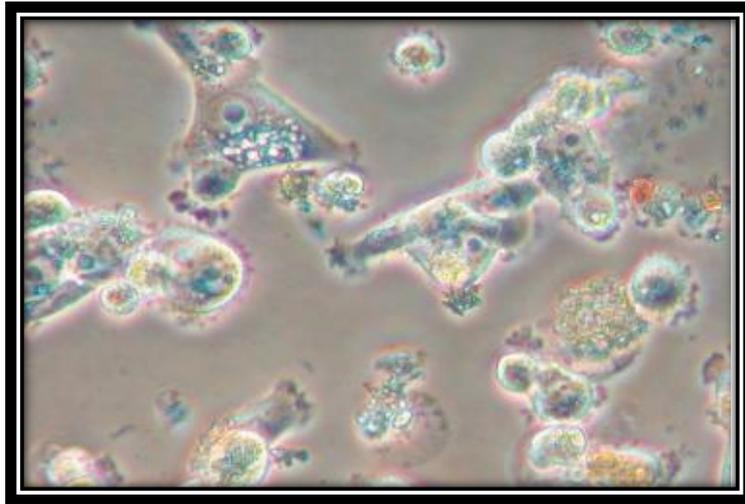


Figure .12. Indiquant la cytotoxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis les cellules pulmonaires humaines ([EMPA Laboratoire Materials Biology Interactions](#)) [9]

De manière générale, les résultats ont démontré que la taille des nanoparticules gouvernait leur taux de capture cellulaire et avait une influence sur la disposition des nanoparticules à potentialiser la production d'espèces activées de l'oxygène (ROS), connus pour affecter la viabilité cellulaire [9].

CHAPITRE II

Bio indicateur

Daphnia magna

1. Bio indicateur : (*Daphnia magna*)

Les tests de toxicité aquatique effectués sur le genre *Daphnia* sont probablement parmi les plus vieux tests connus (Naumann 1934) et parmi les plus couramment utilisés. Pour assurer leur reproductibilité, et ainsi permettre une comparaison des résultats, les procédures de test ont été standardisées (AFNOR 1983; ISO 1989; Environnement Canada 1990) et plus récemment (OECD 211 adopté le 02 octobre 2012 pour l'espèce *Daphnia magna*).

Le terme bio-indicateur désigne des espèces biologiques ou animales qui, du fait de leurs particularités écologiques, réagissent à un polluant par une modification nette et spécifique de leurs fonctions vitales (Sobral O et al., 2001).

2. Définition

Les Daphnies sont des petits Crustacés zooplanctoniques visibles à l'œil nu, leur taille de 1 à 6 mm, de la famille du genre *Daphnia* phyllopoètes cladocères. Il en existe une multitude d'espèces mais les plus courantes sont *D. magna*, *D. pulex*.

La couleur peut varier du transparent au brun en fonction de la nourriture ingérée mais peut également devenir rouge si le taux d'oxygène contenu dans l'eau est très faible, vivants en eau douce, sont très nombreux dans les eaux des mares riches en substances organiques et ne contenant pas de poissons, (Jonczyk et Gilron), Leur nom populaire de « Puce d'eau » donne une bonne idée de leur taille, de leur forme et de leur façon d'évoluer dans l'eau (nageant en coup par coup, comme si elles sautent).

Les toxicologues les utilisent aussi pour détecter la présence de certains toxiques dans l'eau. Leur grande transparence permet de voir les organes internes, alors que l'animal est encore vivant et entier (Bouledroua et Kellout, 1997).

2. Position taxonomique:

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Arthropoda*

Sous- embranchement : *Crustacea*

Classe : *Branchiopoda*

Sous-classe : *Phyllozoa*

Ordre : *Diplostraca*

Sous-ordre : *Cladocera*

Famille : *Daphniidae*

Genre : *Daphnia*

Espèce : *magna*

3. Morphologie

Daphnia magna Straus est un microcrustacé de l'ordre des cladocères très fréquent dans tous les types d'eaux douces non courantes des climats tempérés. De petite taille (4-5 mm), les daphnies se composent de deux parties: la tête et le corps.

- **La tête comporte les yeux**, la bouche, de même que les antennes sur le sommet.

Ces dernières servent essentiellement à la locomotion.

- **Le corps** est enfermé dans une carapace renouvelée lors de chaque ponte (mue).

La partie inférieure de la carapace se termine par une épine apicale plus ou moins longue.

- Le milieu du corps est marqué par le **tube digestif** qui traverse l'animal de haut en bas se terminant au niveau de la griffe post abdominale. Sur la partie ventrale se situent des **appendices** formés de minuscules peignes qui permettent de filtrer le phytoplancton essentiel à la nourriture des daphnies. La partie dorsale constitue une **chambre de maturation** où sont déposés les œufs provenant des **ovaires** situés de part et d'autre de **l'intestin**. Dans cette chambre, les œufs se transforment en néonates qui sont ensuite relâchés dans le milieu extérieur.

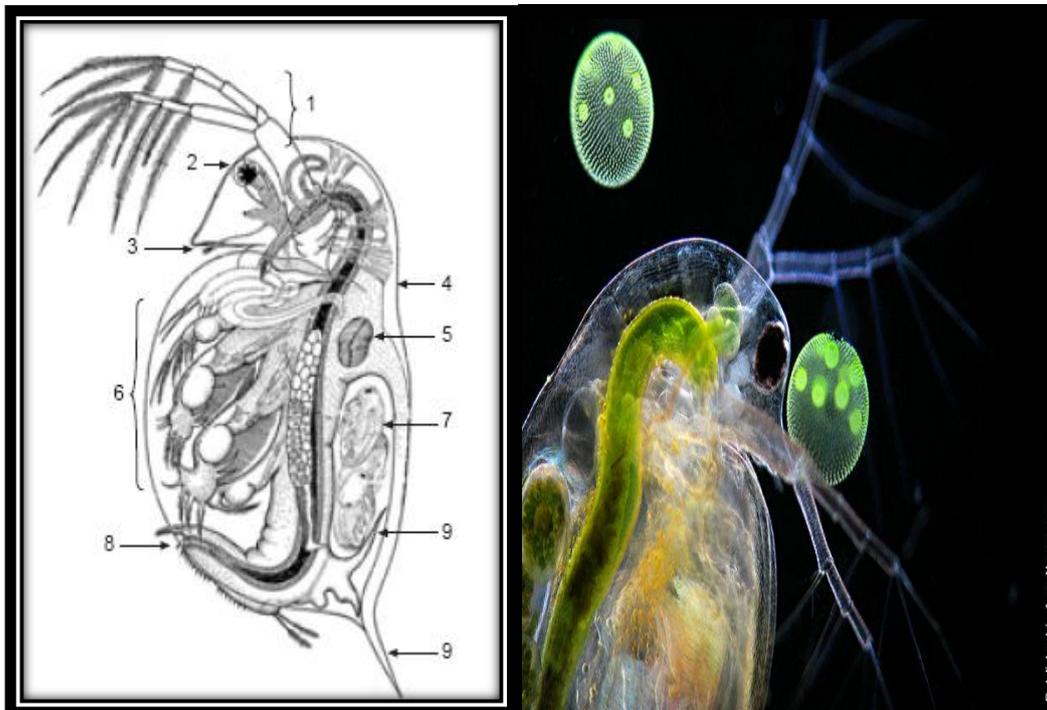


Figure.13. Droite. *Daphnia magna*, femelle adulte [10] (Dieter, 2005). **Gauche.** Anatomie fonctionnelle de *Daphnia* (Ebert.D., 2005): Antennes (1); Œil (2); Antennules(3) ; C a r a p a c e (4) ; C o e u r (5) ; A p p e n d i c e s Thoraciques (6) ; Poche incubatrice (7) Anus (8);Appendices caudaux (9); Epine apicale (10).

Les daphnies peuvent se reproduire de manière sexuée ou asexuée selon les conditions environnementales. En été par exemple, lorsque les conditions varient peu, la reproduction se fait par parthénogenèse.

4. Nutrition :

Dans la nature, les daphnies se nourrissent de bactéries, de phytoplancton, de ciliés, de levures, d'algues uni ou pluricellulaires, de débris organiques fins dissous.

Les daphnies sont considérées comme des filtreurs plus ou moins spécialisées. Les mouvements des pattes thoraciques abondamment ciliées, créent en permanence un courant d'eau entre les valves. Ce courant assure le renouvellement de l'eau au contact des téguments et par conséquent les échanges respiratoires. Les mouvements complexes des appendices thoraciques servent aussi à filtrer l'eau et à retenir les particules nutritives en suspension, sont rassemblées dans une gouttières thoraciques ventrales puis acheminées vers la bouches ; certains espèces sont capables de détacher les particules alimentaires de leur substrat (algues du périphyton) ; d'autres mettent en suspension et absorbent les éléments organiques fins de la vase ou des couches de débris accumulés sur le fond (Burns, 1968 ; Amoros, 1984 ; Lampert, 1987 ; Fryer, 1999).

5. Utilisation scientifique

L'utilisation de *Daphnia magna* pour les tests écotoxicologiques présente de nombreux avantages tels que: élevage relativement facile, production de jeunes régulière et assez élevée, reproduction parthénogénétique assurant une population stable génétiquement (Peters et De Bernardi 1987). De plus, sa distribution planétaire et son rôle dans l'écosystème aquatique (consommateur primaire, intermédiaire entre les algues et les poissons) en font un indicateur intéressant de l'impact potentiel d'un polluant sur l'environnement. Aussi se sont des bio indicateurs.

Les daphnies filtrent l'eau et capturent de minuscules organismes planctoniques à l'aide d'un filtre, placé en entrée de leur système digestif

Grâce à eux, les zones aquatiques sont propres car leur filtration permet de réguler la production d'algues.

6. Reproduction

En conditions favorables, elles se reproduisent par parthénogenèse; les femelles produisent des œufs à 2N chromosomes (absence de reproduction sexuée) qui produisent tous des femelles génétiquement identiques à la mère. Les œufs parthénogénétiques sont transparents, généralement nombreux et à éclosion rapide (un à trois jours). Une femelle adulte produit de 2 à 65 néonates par ponte.

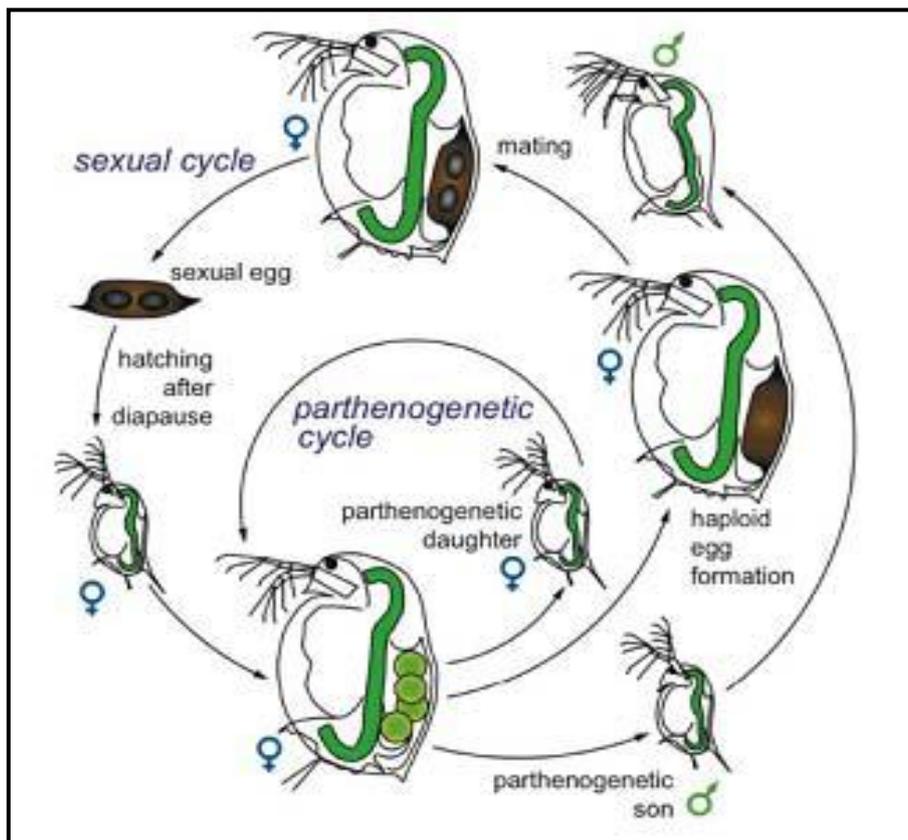


Figure 14: Cycle de reproduction des daphnies en conditions favorables (asexue: parthénogénétique) et en conditions défavorables (sexuel) (Ebert.D., 2005)[10].

En conditions environnementales défavorables, les œufs parthénogénétiques produisent des mâles et des femelles. Ces dernières, lorsqu'elles sont fécondées par le mâle, produisent des œufs contenus dans une enveloppe protectrice foncée nommée éphippie et qui épouse la forme d'une selle sur le dos de la femelle. Ces œufs protégés peuvent être relâchés dans un milieu défavorable et demeurés viables pendant plusieurs mois.

La croissance des jeunes est rapide et la maturité sexuelle est atteinte après environ sept jours. La longévité est d'environ 35 jours durant lesquels s'opèrent de 20 à 30 mues successives. La

température optimale pour la croissance et la reproduction est d'environ 20°C. Les daphnies peuvent tolérer de faibles concentrations d'oxygène dissous (jusqu'à 40% de saturation). Il est à signaler que la coloration rouge des daphnies s'accroît avec la diminution des concentrations d'oxygène. D'autre part, les daphnies prolifèrent dans les eaux dont le pH se situe entre 6,5 et 8,5. Il n'existe que peu d'informations sur les maladies susceptibles d'affecter les daphnies. En de rares occasions, une infection bactérienne ou fongique peut survenir en condition d'élevage (Unestam, 1973).

7. Longévité:

La longévité de *Daphnia* varie avec la température. *Daphnia magna* vit environ 108 jours à 8°C, 45 jours à 18°C, et uniquement 29 jours à 28°C. Cependant l'augmentation de la température conduit à l'accélération du rythme métabolique de l'animal (à corps froid) comme *Daphnia* et *Simocephalus* (De Meester, 1996 ; Toumi 1997).

8. Exigences physicochimiques:

8.1. Salinité:

Les daphnies sont typiquement des organismes des eaux douces, mais quelques unes sont trouvées dans les eaux saumâtres. Cependant, certaines espèces sont également observées à des rivières de salinité qui dépassent les quatre ppt.

8.2. Oxygène dissous:

Daphnia est généralement tolérante pour les eaux de mauvaise qualité. L'oxygène dissous varie dans la plupart des cas de zéro à la super saturation. Les artemides et les daphnies ont l'habileté de survivre dans des milieux pauvres en oxygène, ainsi sont capables de synthétiser l'hémoglobine. La production de l'hémoglobine dépend des températures élevées, et une population de grande densité.

8.3. PH et azote :

Daphnia magna vie dans un pH, qui varie entre 6,5 et 9,5. Des différents niveaux élevés de pH et d'azote, vont réduire dramatiquement la reproduction, mais cela n'affecte pas la santé actuelle des animaux eux même.

8.4. Sels minéraux :

Daphnia tolère des faibles taux d'oxygène, mais elle est très sensible pour la variation de la composition ionique de son milieu. Cependant, elle devient immobile et meure éventuellement avec l'addition des sels tels que le sodium, potassium, magnésium et le calcium.

Une concentration faible de phosphore (moins de 0,5 ppm), stimule la reproduction, mais une concentration supérieure à 1,0 ppm, est létale pour les juvéniles. Les daphnies sont extrêmement sensibles pour les ions de métaux, comme le cuivre et le zinc, les pesticides détergents et les autres toxines dissoutes.

8.5. Température :

La température optimale pour *Daphnia magna* varie entre 18 et 22°C. Le genre *Moina* tolère aussi et résiste aux variations journalières des températures de 5-31°C. Leur température optimale se situe entre 24-31°C. *In vitro*, la durée moyenne de vie est ainsi de 108 jours à 8°C, 40 jours à 25°C, 29 jours à 28°C chez *Daphnia magna* (De Meester, 1996 et Toumi, 1997 ; Chakri, 2007).

CHAPITRE III

Matériel et méthodes

1-MATERIEL:

1-1. Matériel biologique :

Daphnia magna Straus est un microcrustacé de l'ordre des cladocères très fréquent dans tous les types d'eaux douces non courantes des climats tempérés. Dans le modèle expérimental de la contamination est proposé dans ce travail, *Daphnia magna* Straus représente un grand groupe de zooplancton présents dans l'eau douce. Ce groupe, et surtout de petits crustacés tels que *D. magna*, est particulièrement intéressant car il constitue la principale source de protéines animales pour les carpes (Michaels, 1988) La daphnie est aussi un bioindicateur. En toxicologie de l'environnement - ou écotoxicologie - elle est couramment utilisée pour étudier la qualité de l'eau et sa capacité à permettre la survie du zooplancton .

Les tests pratiqués sont des tests aigus (24 ou 48h) ou des tests chroniques (14 jours). Les résultats des tests dépendent, entre autre, de l'état de l'élevage, les jeunes (<24h, appelés aussi néonates) pouvant être plus ou moins sensibles suivant la santé des mères.

- **Conditions d'élevage**

On peut utiliser, comme eau d'élevage et de dilution, de l'eau naturelle (eau de surface ou eau souterraine), de l'eau reconstituée ou de l'eau du robinet déchlorée, du moment que les daphnies y survivent sans montrer de signes de stress pendant toute la durée de l'élevage, de l'acclimatation et de l'essai ; cependant dans notre essai nous avons utilisé une eau de source.

Les daphnies ont été alimentées à la levure de boulanger : *Saccharomyces cerevisiae*.

La température est comprise entre 20 °C et 22 °C.

1.2. Matériel chimique:

L'oxyde de titane(TiO₂) utilisé est sous forme cristalline (en poudre blanche). On a préparé six concentration (0.5, 5, 10, 50, 100,150 et 200mg/l) misent en sonication pendant 30 mn (pulsation 50% :50 sec /5 sec), diluée avec la même eau de source utilisée pour le milieu d'élevage de daphnie.

L'oxyde de fer utilisé est sous forme cristalline (en poudre marron foncé-ocre-). On a préparé Sept concentration (0.5,1,5,10,50,100,150 et 200 mg/l) misent en sonication pendant 10 mn (pulsation 50% :50 sec /5 sec), diluée avec la même eau de source utilisée pour le milieu d'élevage de daphnie.

1.3. Appareillage utilisé:

-pH mètre PH+ papier pH.

- Micromètre 15×BK .
- Microscope optique.
- Aquariums en verre.
- PH-mètre (PH 209 HANNA instruments).
- Oxygène YSI 550A.
- Conductivimètre Ecoscan con 5.
- Four Pasteur Mommert Bechickung- loading modell 100-800.
- Autoclave Sano clave wolf 73337.
- Loupe binoculaire.
- Pompe et diffuseur d'oxygène.
- Tubes à essais de 25 ml.
- Bouteilles en verre de 1 litre stériles.
- Boîtes de pétri.
- Pipettes graduées (10ml, 1ml).
- Pipette pasteur.
- Pipette en verre.
- Lames.
- Bêchers (50ml, 200ml)
- Sonicateur (vibra cell 75186)

2. METHODES:

Nous avons procédé d'abord à un élevage du matériel biologique(*Daphnia magna*) pendant 4 semaines avant le passage aux expérimentations.

2.1. Culture de *Daphnia magna*:

L'élevage d'une population a été initié par des femelles prélevées à partir des marais de la zone Guerbez (Skikda) mises dans deux aquariums remplis au 2/3 de leur hauteur avec l'eau de source oxygénée. Les changements d'eau ne sont pas indispensables. Nous compensons simplement l'évaporation avec de l'eau neuve. La nourriture est l'élément fondamental de la réussite de la culture. Cette dernière doit être distribuée avec parcimonie, très régulièrement (un jour sur deux). Plusieurs types d'alimentation peuvent être proposés, ils pourront être distribués séparément ou en mélange. Nous avons utilisé la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) qui présente une taille facilement absorbable par les daphnies et l'extrait de *Beta vulgaris maritima*.

- **Préparation de l'extrait de l'épinard (*Beta vulgaris maritima*) :**

1Kg de *Beta vulgaris maritima* est lavé, haché puis bouillit dans un litre d'eau de robinet. Le contenu est mixé, homogénéisé puis filtré. L'homogénat est conservé dans le réfrigérateur à 4°C et utilisé ultérieurement.

2.2- Les tests écotoxicologique:

Deux types de tests sont utilisés en écotoxicologie, différents l'un de l'autre par la durée d'exposition de l'organisme « test » au polluant. On parle d'exposition aiguë lorsqu'elle est de courte durée et d'exposition chronique (longue durée).

- **Un test de toxicité aiguë :** On désigne sous le terme de toxicité aiguë l'action rapide sur un organisme vivant, d'une substance toxique administrée à dose élevée, généralement en une seule fois. Les manifestations de l'intoxication sont graves et se terminent souvent par la mort.

- **Un test de toxicité chronique :** On désigne par « toxicité chronique » ou « toxicité à long terme » des études expérimentales faisant appel à une administration répétée ou permanente du produit supérieur au 1/10^{ème} de la vie de l'animal.

2.2.1 : Le test de toxicité aigue :

Se déroule pendant une durée très brève de la vie de l'organisme. C'est le cas du test d'immobilisation sur daphnies qui dure 24h (dans ce cas le test est allongé jusqu' à 72 premières h) alors que les daphnies peuvent vivre plus de 100 jours. Les avantages de ces tests sont leur rapidité et leur faible coût. Cependant comme les tests sont courts, les concentrations utilisées pour produire un effet doivent être relativement élevées. Or, la plupart des problèmes environnementaux sont liés aux concentrations résiduelles engendrant des effets à long terme qui ne peuvent être mis en évidence par ce type de test. C'est pour répondre à ce problème que des tests chroniques ont été développés.

- **Mode opératoire**

Des tubes à essais (de 25ml) stériles sont placés sur un portoir, les tubes sont étiquetés (date (traité/témoin), concentration, numéro de tube).

- Dix daphnies (néonates) sont introduites dans le tube témoin contenant 15 ml de l'eau de source avec quatre réplicats.

- Dans chaque tube traité contenant 15 ml d'une concentration différente de l'oxyde de titane (0.5,5,10,50,100mg/l) et l'oxyde de fer (0.5,1,5,10,50,100,150,200mg/l), on fait introduire 10 néonates.
- Les daphnies sont des néonates de moins de 24 heures avec une taille moyenne de 0.5 et 0.8mm.
- L'observation est effectuée durant les 24h, 48h et 72h.
- Tous les tests ont été répétés quatre fois.

- **Condition:**

- Les daphnies ne doivent pas être nourries pendant l'essai.
- La durée de l'essai est de 72 heures.

- **Lecture:**

- Après 24 heures, 48h et 72h, le nombre de daphnies mortes est compté dans chaque éprouvette (immobilisation signifie inaptitude à la nage pendant 15 secondes après une légère agitation, même si les antennes bougent encore).
- Le nombre de daphnies immobilisées est reporté sur une feuille de calcul Excel.

2.2.2. Le test chronique

Les étapes sont similaires pour les deux nanoparticules utilisées. Le test se déroule pendant une durée relativement longue (21 jours) de la vie de l'organisme et les effets sont mesurés sur des paramètres généralement plus sensibles comme la reproduction chez les daphnies. Ces tests sont plus longs et plus coûteux, mais ils permettent de se faire une idée des implications à long terme de la présence d'un ou de plusieurs polluants dans l'environnement.

- **Principe**

Le test est effectué avec 10 daphnies par concentration et par tube.

- **Mode opératoire**

Nous avons procédé comme suit :

Sur un portoir, nous avons placé des tubes classés comme suivant :

- quatre tubes témoins contenant 15 ml d'eau de source.
- Six concentrations ont été choisies pour l'oxyde de titane (TiO_2) (0.5, 5, 10, 50, 100, 150, 200mg/l) et sept concentrations (0.5, 1, 10, 50, 100, 150, 200mg/l) pour l'oxyde de fer.
- Pour chacun des tubes témoins ou traités on fait introduire 10 néonates.
- l'alimentation est trihebdomadaire.
- Suivre le cycle des daphnies en mesurant les paramètres de cycle de vie pendant les 21 jours ainsi que le taux de mortalité.
- Tous les tests ont été répétés quatre fois.

- **Conditions:**

- La durée de l'essai est de 21 jours.
- Les daphnies doivent être nourries pendant l'essai, chaque deux jour.
- La température doit être comprise entre 20 °C et 22 °C, les conditions d'éclairage sont similaires à celle de l'élevage permettant d'observer les daphnies (avec 16h de lumière /8 obscurité).
- Le renouvellement du milieu de culture se fait chaque deux jour.

- **Lecture:**

Le nombre de daphnies mortes est compté durant les 7j, 14j et 21j, ainsi que le comportement des individus test et l'accumulation des deux substances testé dans le tube digestif.

CHAPITRE IV

Résultats et discussion

Résultats et discussion :

1. Résultats :

1.1. Toxicité de daphnies par l'oxyde de fer (Fe_2O_3) :

1.1.1. Toxicité aiguë :

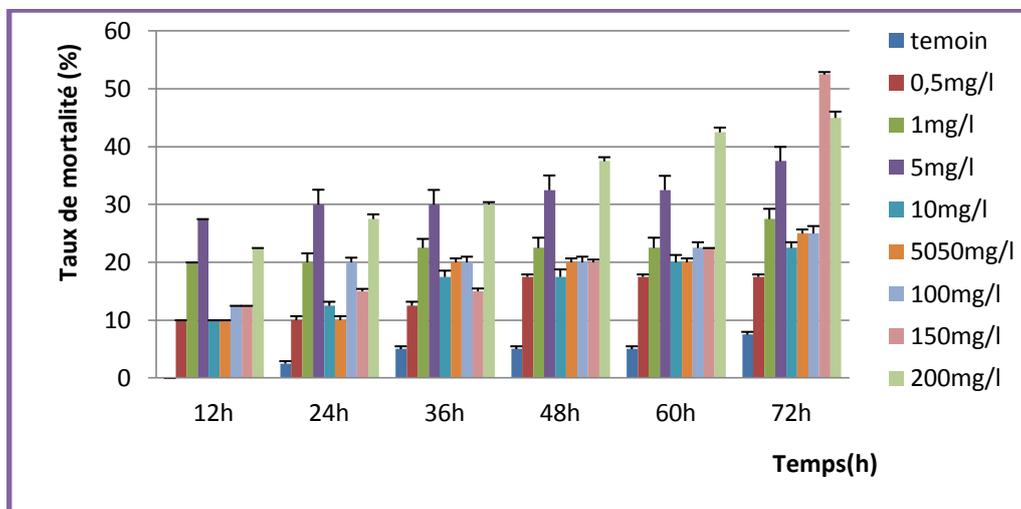


Figure. 15. Taux de mortalité des daphnies (%) en fonction du temps (heures) et en concentration du nano Fe_2O_3

La figure 15 représente le taux de mortalité des daphnies (%) en fonction du temps (heures). En effet, après un contact de 12h on note un taux de mortalité qui atteint 27.5 (%) pour la concentration de 5mg/l de nano Fe_2O_3 avec seulement 10% (0.5, 10 et 50mg/l) et 12.5 % (100 et 150mg/l) avec un taux de 20% pour (1mg/l), les daphnies traitées sont immobiles, le taux de mortalité arrive à 27.5% et 30% pour 200 et 5mg/l après 24h et dépasse les 35% pour 200mg/l après 48h. On observe également, une progression dans la mortalité car 72 heures, ce taux atteint les 52.5% pour (150 mg/l) et 45% pour (200mg/l), 25% pour (100 et 50mg/l) et 17% pour 0.5mg/l. Cependant, les daphnies témoins croissent normalement; les conditions de développement s'avèrent favorables.

1.1.2. Toxicité chronique :

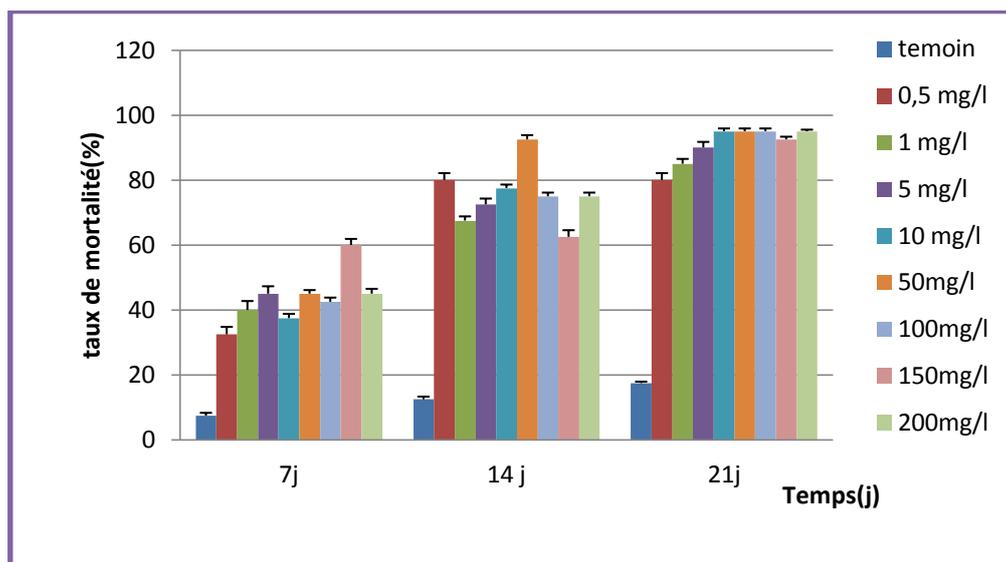


Figure. 16. La mortalité des daphnies traitées par le nano Fe_2O_3 et aux différentes concentrations.

La [figure 16](#) représente la mortalité des daphnies traitées par la solution d'oxyde de fer et aux différentes concentrations utilisées.

D'après les résultats recueillis, on constate que le taux de mortalité évolue d'une manière progressive dans le temps. Dès le 7^{ème} jour, ce dernier est de plus de 50% pour la concentration 150mg/l de Fe_2O_3 , parallèlement, nous constatons qu'au 14^{ème} jour, la mortalité culmine vers les 77.5% (10mg/l) et 80% (0.5mg/l) et 92.5%(50mg/l) et atteint 95%(10, 50,100 et 200 mg/l) vers le 21 jour.

1.1.3. L'effet des nanoparticules de Fe_2O_3 sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*:

- **Longévité :**

Quant à l'oxyde de fer , la [figure 17](#) montre la variation de la longévité en fonction des concentrations utilisées et dans le temps, la longévité des daphnies traitées a connu une baisse hautement significative par rapport au témoin pour la 1^{ère} concentration (0.5mg/l) ainsi que pour les six restes concentrations(on note une baisse de 7 jours pour 0.5mg/l , 10.5 jours pour 1, 50 et 50 mg/g, un baisse de 10 jours pour 5 et 100 mg/l, 9.5 jours pour 50 mg/l et 11 jours pour une concentration de 200mg/l).

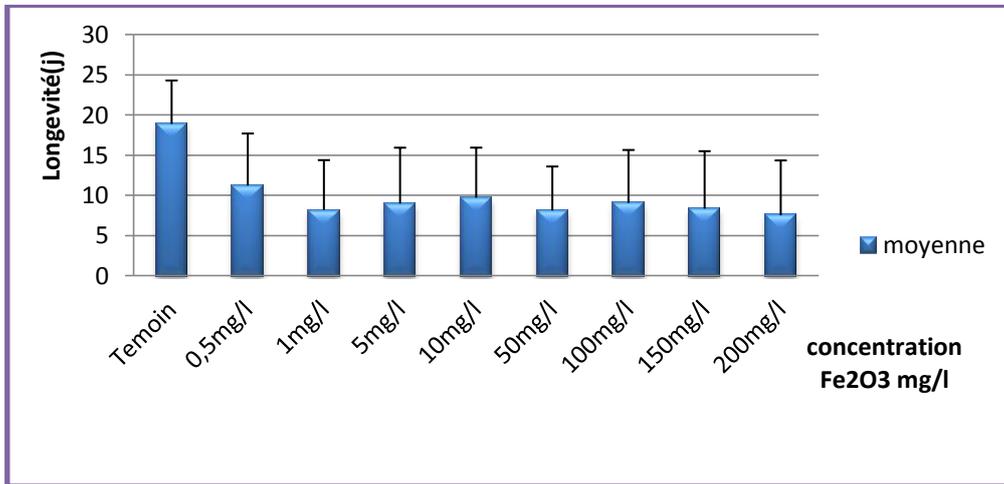


Figure.17. Variation de la longévitémoyenne de *Daphnia magna* en fonction des doses utilisées de Fe₂O₃.

- **L'âge à la maturation et grandeur de ponte moyenne :**

Aucune femelle n'a pu arriver au stade de maturation pendant toute la durée (21 jours) du test et avec toutes les concentrations.

1.2. Toxicité de daphnies par l'oxyde de titane (TiO₂) :

1.2.1. Toxicité aiguë :

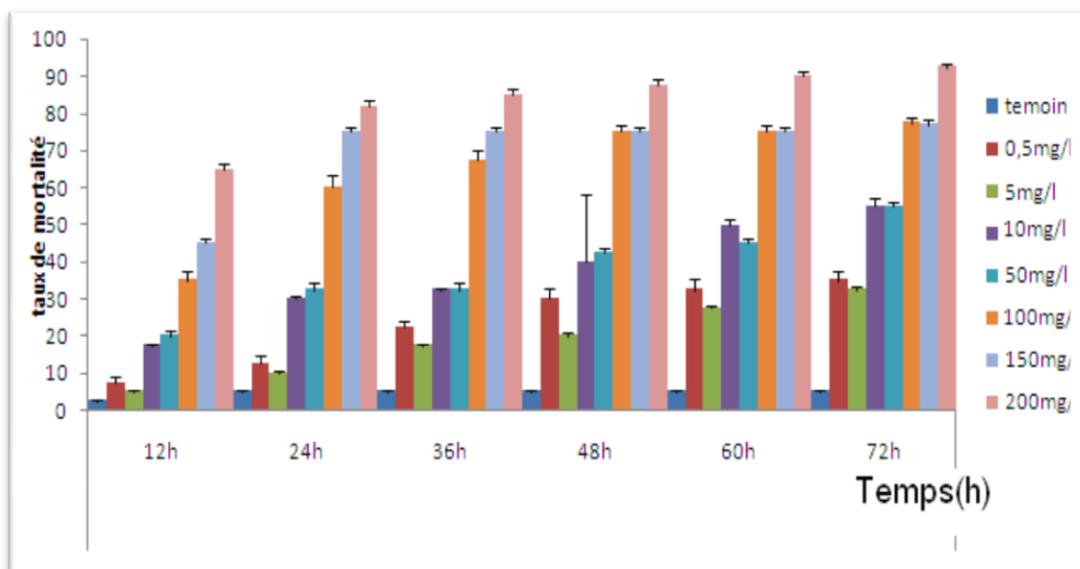


Figure.18. Taux de mortalité des daphnies (%) en fonction du temps (heures) et aux différentes concentrations du nano TiO₂.

La [figure 18](#) représente le taux de mortalité des daphnies (%) en fonction du temps (heures). En effet, après un contact de 12h, 65% des daphnies traitées sont immobiles sur un nombre

totale des daphnies mis en test avec la concentration 200 mg/l de TiO₂, le taux de mortalité dépasse les 40% avec la concentration 150 mg/l et arrive à 17.5%,20% et 35%avec les concentrations 10, 50 et 100 mg/l. Pour les concentrations plu faible (0.5 mg/l et 5 mg/l) on note un taux moins élevé mais reste significatif (7.5% et 5%) après 12 h de temps. On observe également, une progression dans la mortalité avec le temps car après 24 elle dépasse les 30, 60, 70, et 80% pour les concentrations de 50, 100, 150 et 20 mg/l de TiO₂ respectivement, ce taux atteint les 90% avec la concentration 200 mg/l ,77% avec 100et 150mg/l et arrive jusqu'a 35% pour 0.5 mg/l , 32.5% pour 5 mg/l , 55% pour des concentrations de 10 et 50 mg/l. après 21 jours. Cependant, les daphnies témoins croissent normalement; les conditions de développement s'avèrent favorables.

1.2.2. Toxicité chronique :

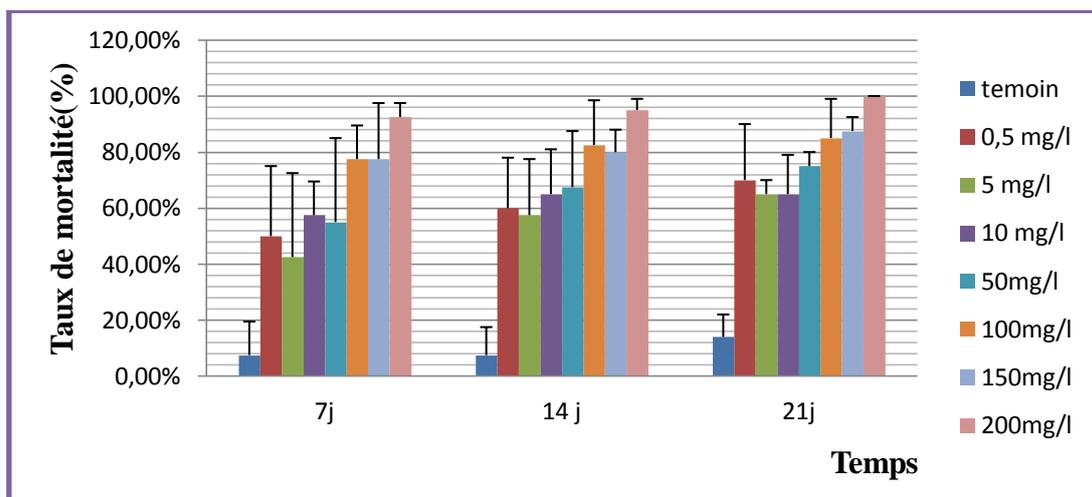


Figure.19. La mortalité des daphnies traitées par le nano TiO₂ aux différentes concentrations et dans le temps.

La [figure.19](#), représente la mortalité des daphnies traitées par le nano TiO₂, la moitié des daphnies sont immobile après 7 jour de contact avec la nanoparticule pour 0.5mg/l, ce pendant le taux de mortalité ataigne les 92.5 % avec 200 mg/l et 77% avec 150 mg/l. La concentration 200 mg/l de Fe₂O₃ provoque effectivement un taux de mortalité qui avoisine les 100 % dès le 14^{ième} jour.

1.2.3. L'effet des nanoparticules de l'oxyde de Titane sur les paramètres de cycle de vie de *Daphnia magna*:

- **Longévité :**

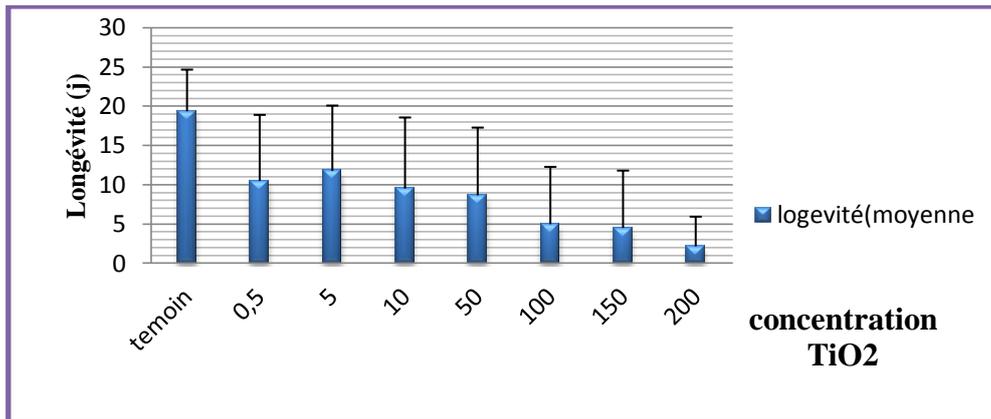


Figure.20. Variation de la longévité moyenne de *Daphnia* contaminées au nano TiO₂ en fonction des concentrations utilisées

Pour ce test les résultats montrent que la relation est inversement proportionnelle entre la dose utilisée de TiO₂ est la longévité des traités, nos résultats montrent que le TiO₂ a provoqué une réduction dans la durée de vie (longévité) des daphnies en fonction des traitements (avec une régression de 10 jours pour 0.5 mg/l, 8, 10 et 11 jours pour 5,10 et 50mg/l respectivement. Cependant l'effet des nanoparticules de TiO₂ concernant ce paramètre par rapport au témoin est clair pour la concentration de 100, 150,200 mg/l dont la longévité est limitée à 5, 4.5 et 2 jours respectivement (figure 20).

- **Age à la maturation :**

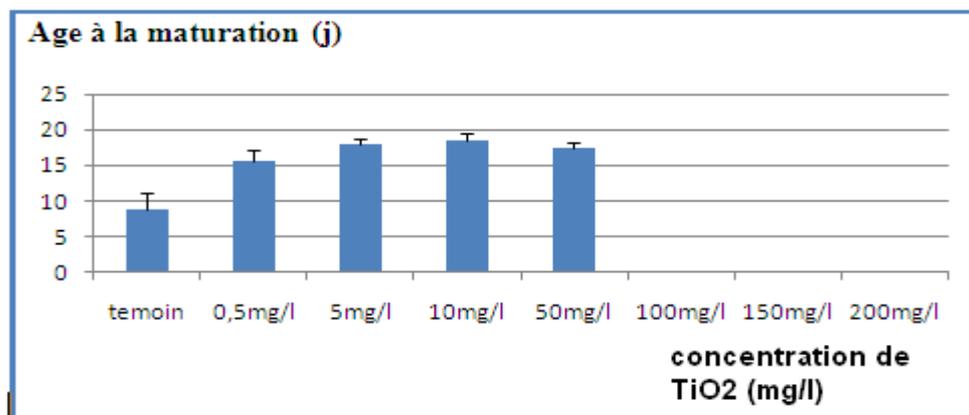


Figure. 21. L'âge à la maturation des daphnies pour les différentes concentrations de TiO₂

La [figure 21](#) représente l'âge à la maturation des daphnies pour les différentes concentrations de l'oxyde de Titane. En effet, au niveau des concentrations de 5,10 et 50 mg/l de TiO₂, les individus mettent plus de 17 jours pour que les juvéniles arrivent au stade de la maturation et 15 jours pour les femelles mis en contact de 0.5 mg/l de TiO₂, pour les concentrations de 100, 150 et 200 mg/l aucune daphnie n'a arrivé au stade de maturation. Quant aux témoins, ces derniers mettent respectivement 07 et 08 jours.

Notons que les juvéniles témoins arrivent à donner leur première ponte après 10 jours.

- **Grandeur de ponte moyenne :**

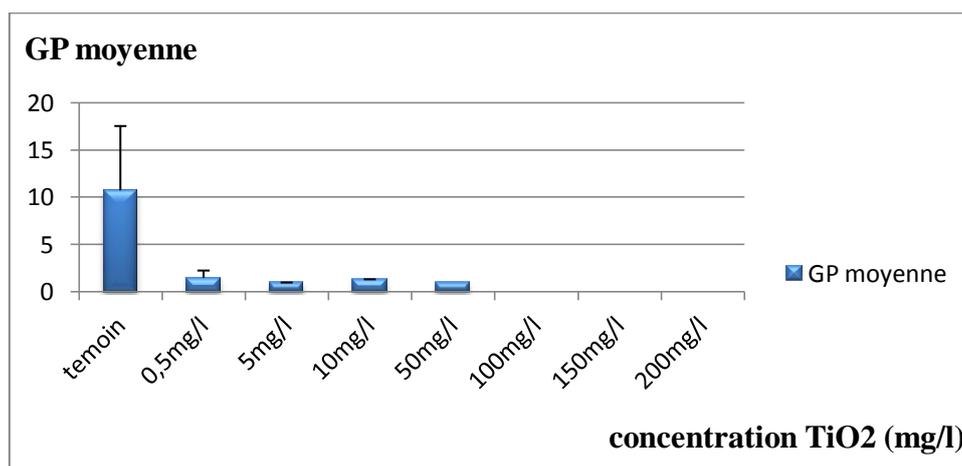


Figure.22. La variation de la grandeur de ponte moyenne pour les différentes concentrations de TiO₂

La grandeur de ponte est illustrée sur la [figure 22](#).

Notons que la grandeur de ponte est nettement faible chez les daphnies mis en contact avec le nano TiO₂ en 0.5 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l et 50 mg/l et n'arrive pas à 2 néonates pour chacune de ces concentrations. Concernant les autres concentrations (100, 150 et 200 mg/l) le taux de mortalité été très élevé et les jeunes femelles restantes n'ont pas arrivé à mettre leur première ponte même au 21 jour .En occurrence, chez les témoins la grandeur de ponte moyenne relative est plus de 10 juvéniles par femelle.

- Accumulation des nanoparticules testées dans le tube digestif de *Daphnia magna* :

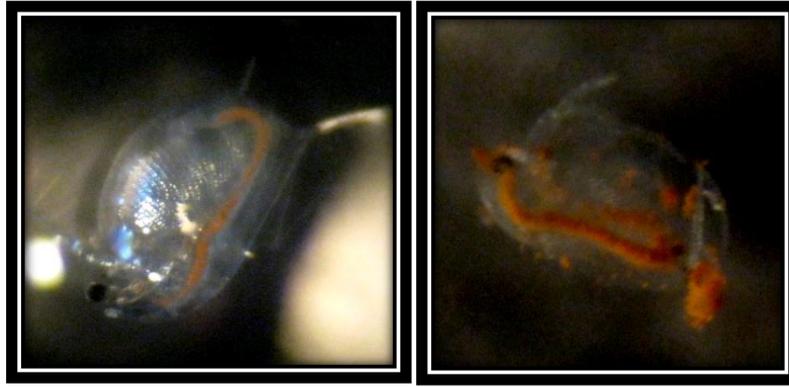


Figure.23. l'accumulation de l'oxyde de fer dans le tube digestif de *Daphnia magna* (cas de 10 mg/l à gauche et 50 mg/l à droite)

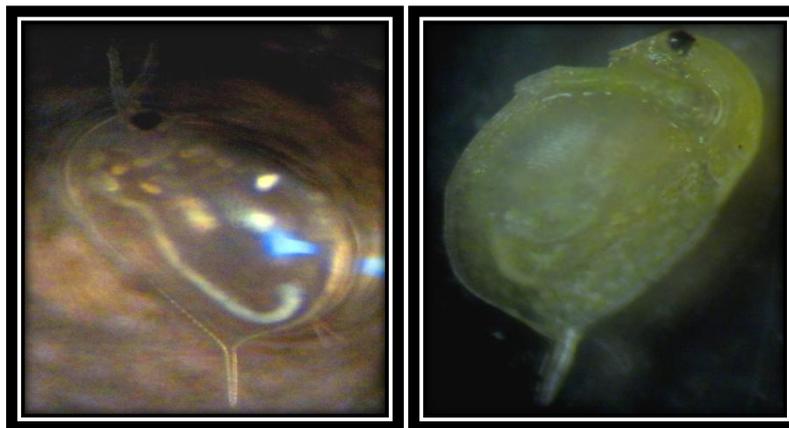


Figure.24. l'accumulation de l'oxyde de titane dans le tube digestif de *Daphnia magna* (cas de 10 mg/l à gauche et 100 mg/l à droite)

2. Discussions :

D'après les résultats obtenus, on note l'effet des différentes concentrations de nanoparticules sur *D. magna*.

- **Les résultats du test aigu** révèlent le taux de mortalité assez élevé des daphnies, suite à la toxicité des deux nanoparticules : oxyde de fer et oxyde de titane.

L'immobilisation des daphnies survient dès les 12 premières heures uniquement du contact direct de ces organismes sentinelles avec la substance test. L'immobilisation des daphnies est une réponse à tous les niveaux d'organisation biologique (physiologique, moléculaire, cellulaire, biochimique, tissulaire, morphologique et écologique) ces résultats sont en accord avec les travaux de [Manuela F et al en 2011\[11\]](#), ont trouvé qu'une concentration de 0.01mg/l de TiO₂ cause un effet significatif ($p > 0.05$) et les travaux de [Zhang H.Y en 2012](#) pour l'effet toxique des nano particules sur la survie et la mobilité des crustacés d'eaux douces et notamment sur *Daphnia magna*.

[Nikolay et al., en 2009](#) ont trouvé que Les femelles des daphnies exposés à 80 et 250 mg L⁻¹ de nanoparticules de TiO₂ étaient significativement plus lentes (perdent leur mobilité) après 24 h que les celles exposés à des concentrations plus faibles, et il était évident que les particules de TiO₂ accumulés en quantités importantes dans le tube digestif soit la première cause du taux de mortalité assez élevé.

Il se trouve que, les nanomatériaux étudiés non seulement précipitent ou flottent à la surface, mais aussi s'agglomèrent, [Heinlaan et al en 2008](#) ont montré dans leur étude « Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. » que, les conditions physiques dans l'eau pendant les 24 premières heures de l'expérience étaient différentes par rapport aux conditions des second 24 h et 48 h comme une quantité importante de nanoparticules étant initialement en suspension précipitent ou flottent.

Dans notre bio essai test, les nanoparticules ont été observées dans le tube digestif des jeunes *Daphnia*. Les animaux peuvent engloutir massivement les nanoparticules agglomérés, les prenant pour des aliments. Il est possible que les particules s'agglomèrent davantage dans le tube digestif, puis éventuellement bloquer la digestion et causer la mort.

Nous suggérons que le mécanisme de la toxicité éventuelle décrit ci-dessus pourrait avoir une certaine importance dans le cas d'une exposition à long terme de *Daphnia* aux nanoparticules. Nous pouvons conclure que la toxicité aiguë des nanoparticules sur la *Daphnia* est déterminée

par certaines propriétés chimiques spécifiques de chaque matériau, plutôt qu'un mécanisme physico-chimique commun aux différents nanomatériaux.

En effet, [Hund-Rinke et Simon \(2006\)](#) ont montré que même si les nanoparticules de TiO₂ ont été illuminées avant de tester les effets toxiques aigus pour les daphnies, des effets sont survenus à 1,5-3 mg. l⁻¹. Concernant notre étude, ces effets sont survenus à des concentrations plus faibles (0.5 mg/l) ainsi pour le TiO₂ ou le Fe₂O₃ avec des conditions de 16/8h (lumière /obscurité)

- **Les résultats du test chronique** montrent que le taux de mortalité est aussi assez élevé suite à l'administration de plusieurs doses de nanoparticules de (oxyde de fer et oxyde de titane). L'action toxique de ces substances évolue progressivement et la plupart des doses utilisées ont provoqué une action létale (taux de mortalité dépassant 50%) sur les daphnies ; mais c'est la dose 200 mg/l qui a remarquablement causé une mortalité de plus de 92.5% dès le 7^{ème} jour TiO₂ et 60% pour la concentration de 150mg/l dans le cas de la toxicité par l'oxyde de fer ces résultats confirment ceux de [Lovern, S.B., Klaper, R., 2006](#) montrant la mortalité induite varie entre 30 et 40% pour les daphnies nourris avec 0,1, 1 et 10 mg / l de TiO₂ d'algues contaminés et les travaux de [Shawna ..Mike et al 2011](#) concernant la toxicité par le Fe₂O₃, TiO₂, ZnO vis à vis *Xenopus laevis* (espèce d'eau douce). [Manuela et al \(2012\)](#) ont montré que l'exposition alimentaire chronique induit la mortalité à 0, 1 mg / l (concentration nominale en milieu d'algues), pour les daphnies qui ont été nourries d'algues contaminées pendant 21 jours, la concentration de l'effet était 10 fois moins que celle trouvée par [Zhu et al. \(2009a\)](#) et 100 fois moins que celle de [Winch et al. \(2009\)](#). Cependant, cet effet plus important pourrait être lié à la méthode de préparation des suspensions tests ou l'exposition alimentaire ([Winch et al., 2009](#)) ou le nanomatériau étudié ([Zhu et al., 2009a](#)). l'exposition chronique par voie alimentaire de la daphnie adulte pourrait indiquer soit, une plus grande sensibilité des stades de la vie, et / ou des effets nocifs cumulatifs conduisant à létalité après une exposition à long terme selon les travaux de [Manuela et al., 2012](#) .

Le taux élevé de la létalité qu'on a trouvé après une exposition de 21 j à été prédit par [Heinlaan et al., 20083](#) qui ont trouvé que l'effet toxique des oxydes métalliques (TiO₂ <CuO <ZnO) pour les crustacés généralement ressemblait à celle des bactéries. Les tests effectués n'ont révélé aucune toxicité de deux formulations testées de TiO₂ et de ZnO (tailles de particules de 25-70 nm pour nano TiO₂, 50 - 70 nm de ZnO) pour les crustacés

T. platyurus, même à 20 g l⁻¹ (2% TiO₂). Cependant, 20 g nano TiO₂ l⁻¹ induit la mortalité de 60% de *D. magna* et l'absence d'effets à des niveaux inférieurs pourrait être due aux conditions de test (dans l'obscurité). Toutefois, les enquêtes préliminaires ont montré que

l'éclairage (8000 lux éclairage fluorescent blanc, froid) pendant le test cause augmentation de la toxicité des nano TiO₂ pour *D. magna* environ 30% selon [Lovern et Klaper \(2006\)](#).

Ces études soulevé des problèmes communs comme la comparaison des effets entre nanomatériaux, ions et matériaux micrométriques ([Blinova et al., 2010](#); [Dabrunz et al., 2011](#); [Poynton et al., 2011](#); [Wiench et al., 2009](#); [Zhao and Wang, 2010](#)) ou bien l'influence des **caractéristiques physico-chimiques** des nanomatériaux ([Wiench et al., 2009](#); [Kim et al., 2010](#); [Li et al., 2010](#); [Strigul et al., 2009](#); [Garcia et al., 2011](#)) et de leur **mode de préparation** ([Wiench et al., 2009](#); [Lee et al., 2010b](#)). Les nanomatériaux induisent une augmentation de la mortalité, altèrent la reproduction, modifient le comportement ou encore génèrent des malformations chez la daphnie ([Dabrunz et al., 2011](#); [Wiench et al., 2009](#); [Garcia et al., 2011](#); [Hall et al., 2009](#); [Kim et al., 2010](#); [Lovern et al., 2007](#); [Zhu et al., 2010](#)). Comme chez les bactéries ou les algues, les **effets physiques** tels que l'obstruction du tube digestif, expliquent une partie de la toxicité des nanomatériaux ([Blinova et al., 2010](#); [Dabrunz et al., 2011](#); [Kim et al., 2010](#); [Zhu et al., 2010](#)). En effet, les daphnies ingurgitent de grandes quantités de nanomatériaux qui viennent bloquer l'assimilation des nutriments ou qui peuvent être transférées dans l'organisme ([Zhao and Wang, 2010](#); [Zhu et al., 2010](#)). De plus, des daphnies qui ingèrent des NPs de TiO₂, par exemple, ne l'éliminent pas facilement et les NPs se trouvent donc concentrées dans cet organisme ([Zhu et al., 2010](#)). Cette **bioaccumulation** peut conduire à la bioamplification, c'est-à-dire à l'augmentation de la teneur en toxique d'un maillon de la chaîne alimentaire à l'autre. ([Camille L., 2011](#)).

- Les résultats relatifs à l'effet nanoparticules sur **les paramètres de cycle de vie** ont permis d'observer et aussi de quantifier les modifications du comportement des daphnies face à ces substances. On a pu cependant, tester et particulièrement chercher les perturbations sur *D. magna*. En effet, l'anatase nanoparticule est plus toxiques que le rutile, chez *D. magna*, c'est en accord avec les travaux de [Bang et al. \(2011\)](#). En outre, la tendance de floculation en particules plus grosses ou plus concentrations sont susceptibles de diminuer l'ingestion, la réduction de la toxicité (formation d'agrégat et agglomérat).

- La **grandeur de ponte moyenne** est très faible dans le cas de TiO₂, semble être due à la petite taille des NPs (10 et 20 nm) et leurs fortes réactivités de surface pourraient expliquer la plus grande capacité des NPs à produire un stress oxydant en l'absence de photoactivation ces résultats sont en accord avec ceux de [Gurr et al., 2005](#), le stress oxydant favorise l'augmentation des effets cytotoxiques et l'inhibition de la reproduction([Zhang et Sun, 2004](#); [Gurr et al., 2005](#); [Sayes et al., 2006](#)).

La grandeur de ponte moyenne par la toxicité de l'oxyde de fer est négatifs (nul) et semble être due aussi au stress oxydatif, les nano Fe_2O_3 favoriseraient la production d'espèces activées de l'oxygène (ROS) connus pour affecter la viabilité cellulaire selon les publications de l'EMPA (Laboratoire Materials Biology Interactions) [10]. [Manuela et al., \(2011\)](#) ont mis en évidence que la progéniture cumulée par couvée a montré une diminution significative de la deuxième génération ($p < 0,022$). Comme observé dans leur étude, l'exposition chronique de *D. Magna* de nanoparticules de TiO_2 induit plus d'effets sur la reproduction sur la base des concentrations nominales de la suspension des nanomatériaux utilisés pour la contamination des algues, ils ont montré une diminution significative de la reproduction des daphnies de 0,01 mg / L. Cette CME0 est 300 fois inférieure à la CSEO sur la reproduction des daphnies mesurée par [Wiench et al. \(2009\)](#),

L'exposition alimentaire à des sous-produits métalliques (nanomatériau) a conduit à des modifications des traits de la vie de *D. magna*, même à ceux observés lors de daphnies sont exposées à Cu et Ni alimentaires. Algues contaminé par des niveaux élevés de Cu (500 mg / l) ou Ni (225-590 mg / l) et utilisés pour nourrir *D. magna* induisent des effets sur la croissance et la reproduction totale ([De Schamphelaere et al, 2007](#); [Evens et al, 2009](#)). Ils ont décrit ces effets, comme une altération de l'énergie.

Dans les travaux de [Manuela et al publiés en \(2011\)](#), les nanomatériaux sous-produits de TiO_2 ont diminué la survie de la progéniture conjointe avec une réduction de la croissance et la reproduction. Ces effets étaient conformes à la restriction de l'acquisition de l'énergie, telle que produite par la perturbation de l'enzyme digestive ([De Coen et Janssen, 1997](#); [Poynton et al, 2007](#)).

Des mesures complémentaires ont montré une diminution des activités d'andestérase amylase après 48h d'exposition au nano TiO_2 , et ces effets sont plus apparents après 21 jours de traitement. Ces résultats étaient cohérents avec les travaux de [Dedourge et al\(2009\)](#) qui a remarqué une diminution des activités des enzymes digestives (en particulier amylase et estérase) de *gammarus fossarum* exposée 7 jours. Ces activités enzymatiques digestives diminuées pourraient expliquer la réduction de la croissance et la reproduction que nous avons également signalé et surtout pour ceux concernant l'oxyde de fer (pas de reproduction).

Concernant, le témoin, l'augmentation de la grandeur de ponte peut être attribuée à la composition du milieu (qualité de nourriture, O_2 ...).

- **La longévité** a connu une baisse dans les différentes concentrations ; notons que la différence entre traités et témoins est nettement élevée. Ces résultats sont en accord avec ceux de [Canesi et al., 2010](#) qui ont expliqués leurs résultats par une induction de l'activité des lysozymes (production d'ERO) et déstabilisation membranaire de ces derniers, augmentation de la lipoperoxydation, du taux de glutathion et une diminution de l'activité Na⁺K⁺- ATPase dans les branchies(truite) menant soit à l'apoptose soit à une nécrose et altération de la viabilité cellulaire. Nos résultats sont aussi en accord avec les travaux de [Manuela et al \(2011\)](#) qui ont trouvé que la survie de la progéniture après 6 jours a été réduit à 68% pour 1 mg / l.
- Pour le paramètre de cycles de vie, **l'âge à la maturation**, est de 7 à 8 jours ([Chakri 2007](#)) pour les témoins et contrairement aux traités à un intervalle (15à18.5jours) semble être du à l'accumulation des deux nanoparticules dans le tube digestif ([figure 22et 23](#)) et y provoquer du stress oxydant inhibant la reproduction [Lubick \(2009\)](#).

Les travaux de [Manuela et al \(2011\)](#) confirment les résultats observés précédemment sur la survie des daphnies traités, à la fin de l'essai, la reproduction a significativement réduit à 0,01 mg / L et 1 mg / L (28 et 42%, respectivement), ainsi que la taille des daphnies, par rapport au témoin. Après 48 h d'exposition au TiO₂ à 0,01 et 1 mg / l, une diminution de l'activité de l'amylase et de l'estérase est mesurée, ainsi que d'une induction de l'activité de la catalase. Le 21^{ème} jour, aucune modification de l'activité des enzymes antioxydantes (CAT et SOD) n'a été observée par rapport au témoin (conditions d'obscurité). Cependant, une réduction significative (p <0,004) de l'estérase, l'amylase, et l'activité trypsine a été mesurée aux deux concentrations testées.

Ces chercheurs ont donné une autre explication, que, L'altération de la physiologie de l'appareil digestif pourrait aussi réduire l'efficacité de l'assimilation des aliments, et de provoquer un affaiblissement des organismes au cours de l'exposition alimentaire, dont, un processus cumulatif qui pourrait expliquer l' effet de retard sur la reproduction des adultes matures *D. magna*. Aussi, quand les juvéniles sont exposées pendant 21 jours, les effets sont amplifiés par la limitation de la croissance et de la reproduction, le même cas est constaté lors notre étude (cas de Fe₂O₃ où la reproduction est inhibée).

• D'autres études sur les espèces aquatiques autres les crustacés montrent que les algues sont, elles aussi, sensibles a une exposition aux nanomatériaux. Ces derniers entraineraient une augmentation de la mortalité ([Aruoja et al., 2009](#); [Brayner et al., 2010](#); [Miao et al., 2010](#)), des retards de croissance ([Gong et al., 2011](#); [Gubbins et al., 2011](#); [Hartmann et al., 2010](#); [Peng et al., 2011](#); [Wei et al., 2010b](#)), une diminution de la

photosynthèses (Bhattacharya *et al.*, 2010; Brayner *et al.*, 2011; Gong *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2009b; Shi *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2010b) et une génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Wei *et al.*, 2010b; Bhattacharya *et al.*, 2010). Les effets toxiques sont parfois expliqués par l'**adsorption** de nanomatériaux à la surface des algues (Aruoja *et al.*, 2009; Bhattacharya *et al.*, 2010; Gong *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2009b; Wei *et al.*, 2010a) voire par leur **internalisation** (Brayner *et al.*, 2010; Miao *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2011). Ainsi, dans le cas de l'algue unicellulaire *Scenedesmus*, les NPs de polystyrène s'adsorbent sur toute la surface de l'algue générant des troubles de la photosynthèse (Bhattacharya *et al.*, 2010). Les substances exopolymériques pourraient également avoir un rôle protecteur. (Camille 2011).

Ces travaux vont dans le sens de la toxicité des nanoparticules envers tous les organismes vivants.

CONCLUSION

Toutes ces études stipulent qu'il existe en effet un danger lié aux nanotechnologies. Les nanoparticules peuvent se révéler toxiques pour l'homme tout comme pour son entourage, mais les données disponibles sont insuffisantes et fractionnées. Ces données ne couvrent qu'une infime partie des informations requises afin de conclure définitivement sur la toxicité de certaines nanoparticules. Cependant, la majorité des données acquises à ce jour montre qu'il existe un danger potentiel pour les sujets exposés aux nanoparticules.

Peu d'études aussi sur l'écotoxicité aquatique ont porté sur le TiO_2 et le Fe_2O_3 , et en particulier sur les effets d'une exposition prolongée. Ici, nous avons signalé la première étude comparative de la toxicité aiguë et chronique pour *D. magna* par l'oxyde de titane et l'oxyde de fer nanométriques. Nos résultats ont démontré que le traditionnel 48 h essai de toxicité aiguë peut ne pas être suffisant pour l'évaluation de la toxicité des deux nanoparticules, mais une toxicité supérieure a été observée lors de l'exposition étendue sur 72 h. Par ailleurs, l'exposition chronique à nTiO_2 et Fe_2O_3 pendant 21 jours induit une inhibition significative de la croissance et de la reproduction, et une augmentation du taux de mortalité.

En outre, *D. magna* peut accumuler les deux nanoparticules de l'environnement ambiant avec des concentrations élevées (bioaccumulation), qui peut affecter sa croissance, sa reproduction et même sa respiration. L'ensemble de ces résultats indiquent que l'oxyde de titane ainsi que l'oxyde de fer nanométrique, en particulier pendant une exposition chronique, peut exercer une incidence négative sur les populations d'organismes aquatiques par le biais alimentaires et la dynamique dans les systèmes et milieux aquatiques.

Enfin, la composition chimique et la taille des nanoparticules semblent être des déterminants importants contrôlant ainsi leur internalisation, leurs transferts et leurs effets biologiques sur les organismes vivants.

Perspectives

La traçabilité complète corrélée à l'obligation d'étiquetage des produits des nanoparticules pour une information claire des consommateurs, selon les différents usages et les différentes expositions

En effet, la réponse d'un biomarqueur pour un contaminant peut être différente selon les espèces (Spurgeon et al., 2000; Fourie et al., 2007; Maleri et al., 2008b). Il est d'ailleurs généralement recommandé d'utiliser plusieurs espèces dans les tests écotoxicologiques pour avoir une meilleure gestion environnementale et pour avoir des procédures d'évaluation des risques écologiques plus précises (Van Straalen., 2002). Il faudrait donc accentuer nos efforts sur la recherche des gènes de ces espèces, et renforcer les études écotoxicologiques aux échelles cellulaires, individuelles et populationnelles.

Les daphnies sont également des organismes clés dans la chaîne alimentaire. Une première étude a mis en évidence la biomagnification des nanoparticules dans la chaîne trophique entre un producteur primaire et un consommateur primaire (Judy et al., 2011). L'étude du transfert de ces nanomatériaux de TiO_2 via la chaîne trophique permettrait de mettre en évidence le potentiel biomagnification de ces nouveaux contaminants aux organismes supérieurs et le danger que peuvent représenter ces nanomatériaux pour l'Homme et l'Environnement.

References Bibliographiques

- **AFNOR ., 1983.** *Détermination de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna.* AFNOR (Association française de normalisation). NF T 90-301. Paris.
- **AFSSET., 2010.** Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement, p. 207.
- **Ajayan, P.M., Schadler, L.S., Braun, P.V., 2003.** Nanocomposite Science and Technology. Wiley-VCH.
- **Amoros, C., 1984.** Crustacés cladocères. Association Française de Limnologie 5 :72-150.
- **Aruoja, V., Dubourguier, H. C., Kasemets, K. & Kahru, A., 2009.** Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Science of the Total Environment* 407(4): 1461-1468.
- **Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Klüttgen, B., Christensen, F.M., 2011.** Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health e lessons learned from four case studies. *Environment International* 37, 1143e1156.
- **Asli, S., Neumann, P.M., 2009.** Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. *Plant, Cell & Environment* 32, 577e584.
- **Auffan, M., Pedeutour, M., Rose, J., et al., 2010.** Structural degradation at the surface of a TiO₂-based nanomaterial used in cosmetics. *Environmental Science & Technology* 44, 2689–2694.
- **Bang, S.H., Le, T.-H., Lee, S.K., Kim, P., Kim, J.S., Min, J., 2011.** Toxicity assessment of titanium (IV) oxide nanoparticles using *Daphnia magna* (water flea). *Environ. Health Toxicol.* 26, 201-1002.
- **Bhattacharya, P., Lin, S. J., Turner, J. P. & Ke, P. C., 2010.** Physical Adsorption of Charged Plastic Affects Algal Photosynthesis. *Journal of Physical Chemistry C* 114(39): 16556- 16561.
- **Blinova, I., Ivask, A., Heinlaan, M., Mortimer, M. & Kahru, A., 2010.** Ecotoxicity of nanoparticles of CuO and ZnO in natural water. *Environmental Pollution* 158(1): 41-47.
- **Bonnemain B., 2008,** *Mise au point Nanoparticules : le point de vue d'un industriel. Applications en imagerie diagnostique ; Nanoparticules: The industrial viewpoint. Applications in diagnostic imaging ; Annales Pharmaceutiques Françaises Volume 66, Issues 5-6, November-December, Pages 263-267.*

- **Bouledroua F et Kellout N., 1997** .Polymorphisme enzymatique chez daphnia et technique électrophorétique. Mémoire de D.E.S en biochimie. Université de Badji Mokhtar Annaba p.13-21.
- **Bradford A., Handy R.D., Readman J.W. et al., 2009**. Impact of silver nanoparticle contamination on the genetic diversity of natural bacterial assemblages in estuarine sediments. *Environ. Sci. Technol.*; 43(12):4530-6.
- **Brayner, R., Dahoumane, S. A., Yepremian, C., et al., 2010**. ZnO Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Ecotoxicological Studies. *Langmuir* 26(9): 6522-6528.
- **Brayner, R., Sicard, C., Ben Sassi, H., Beji, Z., Yepremian, C., Coute, A. & Fievet, F. (2011)**. Design of ZnO nanostructured films: Characterization and ecotoxicological studies. *Thin Solid Films* 519(10): 3340-3345.
- **Buzea, C., Pacheco Blandino, I.I., Robbie, K., 2007**. Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases* 2, MR17 - MR172.
- **Camille, L., 2011** impact de nanoparticules de TiO₂ et de nanotube sur les végétaux. These de doctorat ; L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. (AgroParisTech), 296 p.
- **Canesi, L., Ciacci, C., Vallotto, D., Gallo, G., Marcomini, A., Pojana, G., 2010a**. In vitro effects of suspensions of selected nanoparticles (C60 fullerene, TiO₂, SiO₂) on *Mytilus* hemocytes. *Aquatic Toxicology* 96, 151-158.
- **Canesi, L., Fabbri, R., Gallo, G., Vallotto, D., Marcomini, A., Pojana, G., 2010b**. Biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* exposed to suspensions of selected nanoparticles (Nano carbon black, C60 fullerene, Nano-TiO₂, Nano-SiO₂). *Aquatic Toxicology* 100, 168-177.
- **Carlotti, M.E., Ugazio, E., Sapino, S., Fenoglio, I., Greco, G., Fubini, B., 2009**. Role of particle coating in controlling skin damage photoinduced by titania nanoparticles. *Free Radical Research* 43, 312-322.
- **Chakri, K., 2007**. Contribution à l'étude écologique de *Daphnia magna* (Branchiopoda : Anomopoda) dans la Numidie, et inventaire des grands Branchiopes en Algérie. Thèse de doctorat d'état ; Université Badji Mokhtar Annaba. 173 p.
- **Claire Corot, Philippe Robert, Jean-Marc Idée, Marc Port., 2006**. *Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging* (Review Article), *Advanced Drug Delivery Reviews*, Volume 58, Issue 14, , Pages 1471-1504 .
- **Chen, D., Zhang, D., Yu, J.C., Chan, K.M., 2011**. Effects of Cu₂O nanoparticle and CuCl₂ on zebrafish larvae and a liver cell-line. *Aquatic Toxicology* 105, 344-354.

- **Choi, J.E., Kim, S., Ahn, J.H., Youn, P., Kang, J.S., Park, K., Yi, J., Ryu, D.-Y., 2010.** Induction of oxidative stress and apoptosis by silver nanoparticles in the liver of adult zebrafish. *Aquatic Toxicology* 100, 151-159.
- **Dabrunz, A., Duester, L., Prasse, C., et al., 2011.** Biological Surface Coating and Molting Inhibition as Mechanisms of TiO₂ Nanoparticle Toxicity in *Daphnia magna*. *Plos One* 6(5).
- **De Coen, W.M., Janssen, C.R., 1997.** The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing. II. Digestive enzyme activity in *Daphnia magna* exposed to sublethal concentrations of cadmium, chromium and mercury. *Chemosphere* 35, 1053-1067.
- **De Schamphelaere, K.A.C., Canli, M., Van Lierde, V., et al., 2004.** Reproductive toxicity of dietary zinc to *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 70, 233-244.
- **Delfino RJ, Quintana PJ, Floro J, et al., 2004** Association of FEV1 in asthmatic children with personal and microenvironmental exposure to airborne particulate matter. *Environ Health Perspect*; 932-41.
- **Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O., Geffard, A., 2009.** Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: an in situ experiment. *Chemosphere* 77, 1569-1576.
- **Domingos, R.F., Tufenkji, N., Wilkinson, K.J., 2009.** Aggregation of Titanium Dioxide Nanoparticles: Role of a Fulvic Acid. *Environmental Science & Technology* 43, 1282-1286.
- **Drobne, D., Jemec, A., Pipan Tkalec, Z., 2009.** *In vivo* screening to determine hazards of nanoparticles: Nanosized TiO₂. *Environmental Pollution* 157, 1157-1164.
- **Dunphy Guzman, K.A., Finnegan, M.P., Banfield, J.F., 2006.** Influence of Surface Potential on Aggregation and Transport of Titania Nanoparticles. *Environmental Science & Technology* 40, 7688-7693.
- **Evens, R., De Schamphelaere, K.A.C., Janssen, C.R., 2009.** The effects of dietary nickel exposure on growth and reproduction of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 94, 138-144.
- **Fang, J., Shan, X.-q., Wen, B., Lin, J.-m., Owens, G., 2009.** Stability of titania nanoparticles in soil suspensions and transport in saturated homogeneous soil columns. *Environmental Pollution* 157, 1101-1109.
- **Federici, G., Shaw, B.J., Handy, R.D., 2007.** Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology* 84, 415-430.

- **Fisichella, M., Dabboue, H., Bhattacharyya, S., Saboungi, M.-L., Salvetat, J.-P., Hevor, T., Guerin, M., 2009.** Mesoporous silica nanoparticles enhance MTT formazan exocytosis in HeLa cells and astrocytes. *Toxicology in Vitro* 23, 697-703.
- **Garcia, A., Espinosa, R., Delgado, L., et al., 2011.** Acute toxicity of cerium oxide, titanium oxide and iron oxide nanoparticles using standardized tests. *Desalination* 269(1-3): 136-141.
- **Gold DR, Litonjua A, Schwartz J, et al., 2000.** Ambient pollution and heart rate variability. *Circulation* 1267-73.
- **Gong, N., Shao, K. S., Feng, W., Lin, Z. Z., Liang, C. H. & Sun, Y. Q., 2011.** Biototoxicity of nickel oxide nanoparticles and bio-remediation by microalgae *Chlorella vulgaris*. *Chemosphere* 83(4): 510- 516.
- **Gottschalk, F., Sonderer, T., Scholz, R.W., Nowack, B., 2009.** Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO₂, ZnO, Ag, CNT, Fullerenes) for different regions. *Environmental Science & Technology* 43, 9216-9222.
- **Gubbins, E. J., Batty, L. C. & Lead, J. R. (2011).** Phytotoxicity of silver nanoparticles to *Lemna minor* L. *Environmental Pollution* 159(6): 1551-1559.
- **Gurr, J.-R., Wang, A.S.S., Chen, C.-H., Jan, K.-Y., 2005.** Ultrafine titanium dioxide particles in the absence of photoactivation can induce oxidative damage to human bronchial epithelial cells. *Toxicology* 213, 66-73.
- **Hall, S., Bradley, T., Moore, J. T., Kuykindall, T. & Minella, L., 2009.** Acute and chronic toxicity of nano-scale TiO₂ particles to freshwater fish, cladocerans, and green algae, and effects of organic and inorganic substrate on TiO₂ toxicity. *Nanotoxicology* 3(2): 91-97.
- **Hansen, S.F., Larsen, B.H., Olsen, S.I., Baun, A., 2007.** Categorization framework to aid hazard identification of nanomaterials. *Nanotoxicology* 1, 243-250.
- **Hao, L., Wang, Z., Xing, B., 2009.** Effect of sub-acute exposure to TiO₂ nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Juvenile Carp
- **Hartmann, N. B., Von der Kammer, F., Hofmann, T et al., 2010.** Algal testing of titanium dioxide nanoparticles-Testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability. *Toxicology* 269(2-3): 190-197. (*Cyprinus carpio*). *Journal of Environmental Sciences* 21, 1459-1466.
- **Heinlaan M., A. Ivask, I. Blinova, H.-C. Dubourguier and A. Kahru., 2008.** Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere*, 71. 1308–1316.

- **Hidy G.M., Brock J.R.** Topics in current aerosol research systems (International review in aerosol physics and chemistry, vol II).Pergamon Press, **1971**).
- **Hoffmann, M.R., Martin, S.T., Choi, W., Bahnemann, D.W., 1995.** Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis. Chemical Reviews 95, 69-96.
- **Hund-Rinke, K., Simon, M., 2006.** Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 13, 225–232.
- **International Organization for Standardization (ISO/TS 80004-1) 2010** Nanotechnologies - Vocabulary - Part 1: Core terms.
- **International Organization for Standardization (ISO/TS 27687), 2008.** Nanotechnologies -- Terminologie et définitions relatives aux nano-objets -- Nanoparticule, nanofibre nanofeuillet.
- **ISO-8692, 2004.** Water Quality Freshwater Algal Growth Inhibition Test with Unicellular Green Algae.
- **Jacobs, J., van de Poel, I., Osseweijer, P., 2010.** Sunscreens with titanium dioxide (TiO₂) nano-particles: a societal experiment. NanoEthics 4, 103-113.
- **Jesse L. Winer, Charles Y. Liu, Michael L.J. Apuzzo,***The Use of Nanoparticles as Contrast Media in Neuroimaging: A Statement on Toxicity*; World Neurosurgery, Available online 7 November **2011**,doi:10.1016/j.wneu.2011.08.013
- **Johnson, A.C., Bowes, M.J., Crossley, A., Jarvie, H.P., Jurkschat, K., Jürgens, M.D., Lawlor, A.J., Park, B., Rowland, P., Spurgeon, D., Svendsen, C., Thompson, I.P., Barnes, R.J., Williams, R.J., Xu, N., 2011.** An assessment of the fate, behaviour and environmental risk associated with sunscreen TiO₂ nanoparticles in UK field scenarios. Science of the Total Environment 409, 2503e2510.
- **Kim, S., Choi, J.E., Choi, J., Chung, K.-H., Park, K., Yi, J., Ryu, D.-Y., 2009.** Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. Toxicology inVitro 23, 1076-1084.
- **Kim, K. T., Klaine, S. J., Cho, J., Kim, S. H. &Kim, S. D. 2010.** Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO₂) nanoparticles according to size fraction. Science of the Total Environment 408(10): 2268-2272.
- **LaCourse, E.J., Hernandez-Viadel, M., Jefferies, J.R., Svendsen, C., Spurgeon, D.J., Barrett, J., John Morgan, A., Kille, P., Brophy, P.M., 2009.** Glutathione transferase (GST) as a candidate molecular-based biomarker for soil toxin exposure in the earthworm *Lumbricus rubellus*. Environmental Pollution 157, 2459-2469.

- **Lecoanet, H.F., Bottero, J.-Y., Wiesner, M.R., 2004.** Laboratory Assessment of the Mobility of Nanomaterials in Porous Media. *Environmental Science & Technology* 38, 5164-5169.
- **Lee, J., Ji, K., Kim, J., Park, C., Lim, K. H., Yoon, T. H. & Choi, K., 2010b.** Acute toxicity of two CdSe/ZnSe quantum dots with different surface coating in *Daphnia magna* under various light conditions. *Environmental toxicology* 25(6): 593-600.
- **Lee, S., Kim, K., Shon, H., Kim, S., Cho, J., 2011.** Biototoxicity of nanoparticles: effect of natural organic matter. *Journal of Nanoparticle Research* 13, 3051-3061.
- **Li, T., Albee, B., Alemayehu, Met al., 2010.** Comparative toxicity study of Ag, Au, and Ag-Au bimetallic nanoparticles on *Daphnia magna*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398(2): 689-700.
- **Lin, S. J., Bhattacharya, P., Rajapakse, N. C., Brune, D. E. & Ke, P. C. (2009b).** Effects of Quantum Dots Adsorption on Algal Photosynthesis. *Journal of Physical Chemistry C* 113(25): 10962-10966.
- **Lovern, S.B et Klaper, R., 2006.** *Daphnia magna* mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C60) nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* 25 (4), 1132– 1137.
- **Lovern, S. B., Strickler, J. R. & Klaper, R. (2007).** Behavioral and physiological changes in *Daphnia magna* when exposed to nanoparticle suspensions (titanium dioxide, nano-C-60, and C(60)HxC(70)Hx). *Environmental Science & Technology* 41(12): 4465-4470.
- **Lubick, N., 2009.** Promising green nanomaterials. *Environmental Science and Technology* 43, 1247e1249.
- **Lwebuga-Mukasa JS, Oyana TJ, Johnson C. 2005.** Local ecological factors, ultrafine particulate concentrations, and asthma prevalence rates in Buffalo, New York, neighborhoods. *J Asthma*; 337-48.
- **Manuela F, Benjamin D, Bernard V et al ., 2012**
Effects of aged TiO₂ nanomaterial from sunscreen on *Daphnia magna* exposed by dietary route. *Environmental Pollution* 163. 55-61
- **Maynard AD, Maynard RL et al., 2002.** A derived association between ambient aerosol surface area and excess mortality using historical time series data. *Atmospheric Environment*; (36-37), 5561-7.
- **Miao, A. J., Luo, Z. P., Chen, C. S., Chin et al., (2010).** Intracellular Uptake: A Possible Mechanism for Silver Engineered Nanoparticle Toxicity to a Freshwater Alga *Ochromonas danica*. *Plos One* 5(12).

- **Mueller, N.C., Nowack, B., 2008.** Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment. *Environmental Science & Technology* 42, 4447e4453.
- **Nations, Shawna, Long et al., 2011.** Effects of ZnO nanomaterials on *Xenopus laevis* on growth and development. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 203–210.
- **OECD, 2011.** Validation report for an enhancement of OECD TG 211 *Daphnia magna* reproduction test. OECD Series on Testing and Assessment, Number 88. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- **Oleg Lunov, Tatiana Syrovets, Berthold Büchele, et al. 2010**, *The effect of carboxydextran-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles on c-Jun N-terminal kinase-mediated apoptosis in human macrophages*; *Biomaterials*, Volume 31, Issue 19, 5063-5071
- **Pekkanen J., Kulmala M., 2004.** Exposure assessment of ultrafine particles in epidemiologic time-series studies. *Scand J Work Environ Health*; 30 Suppl 2/9-18.
- **Peng, X. H. P. X. H., Palma, S., Fisher, N. S. & Wong, S. S. 2011.** Effect of morphology of ZnO nanostructures on their toxicity to marine algae. *Aquatic Toxicology* 102(3-4): 186-196.
- **Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J. 2001.** Number concentration and size of particles in urban air: effects on spirometric lung function in adult asthmatic subjects. *Environ Health Perspect*; 3,19-23.
- **Penttinen P, Timonen KL, Tiittanen P, Mirme A, Ruuskanen J, Pekkanen J.** Ultrafine particles in urban air and respiratory health among adult asthmatics. *Eur Respir J* 2001;17(3):428-35.
- **Posgai, R., Cipolla-McCulloch, C.B., et al., in press.** Differential toxicity of silver and titanium dioxide nanoparticles on *Drosophila melanogaster* development, reproductive effort, and viability: Size, coatings and antioxidants matter. *Chemosphere In Press*, Corrected Proof.
- **Poynton, H. C., Lazorchak, J. M., Impellitteri, et al., 2011.** Differential Gene Expression in *Daphnia magna* Suggests Distinct Modes of Action and Bioavailability for ZnO Nanoparticles and Zn Ions. *Environmental Science & Technology* 45(2): 762-768.
- **Poynton, H.C., Varshavsky, J.R., Chang, B., et al., 2007.** *Daphnia magna* ecotoxicogenomics provides mechanistic insights into metal toxicity. *Environmental Science and Technology* 41,1044-1050.
- **Renwick L.C., Donaldson K., Clouter A. 2001.,** Impairment of alveolar macrophage phagocytosis by ultrafine particles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 172(2):119-27.

- **Ringwood, A.H., McCarthy, M., Bates, T.C., Carroll, D.L., 2010.** The effects of silver nanoparticles on oyster embryos. *Marine Environmental Research* 69, S49-S51.
- **Roh, J.-Y., Park, Y.-K., Park, K., Choi, J., 2010.** Ecotoxicological investigation of CeO₂ and TiO₂ nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using gene expression, growth, fertility, and survival as endpoints. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 29, 167-172.
- **Saint-Denis, M., Narbonne, J.F., Arnaud, C., Thybaud, E., Ribera, D., 1999.** Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil: effects of benzo(a)pyrene. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1837-1846.
- **Shi, J. Y., Abid, A. D., Kennedy, I. M., Hristova, K. R. & Silk, W. K. (2011).** To duckweeds (*Landoltia punctata*), nanoparticulate copper oxide is more inhibitory than the soluble copper in the bulk solution. *Environmental Pollution* 159(5): 1277-1282.
- **Sobral, O., Chastin, C., Nogueira, A., et al., 2001.** Developmental abnormalities of hatched embryos *In Vivo* development of parthenogenetic eggs: a fast ecotoxicity test with *Daphnia magna*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 50, 174–179.
- **Solovitch, N., Labille, J., Rose, J., et al., 2010.** Concurrent Aggregation and Deposition of TiO₂ Nanoparticles in a Sandy Porous Media. *Environmental Science & Technology* 44, 4897-4902.
- **Strigul, N., Vaccari, L., Galdun, C. et al., 2009.** Acute toxicity of boron, titanium dioxide, and aluminum nanoparticles to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Desalination* 248(1-3): 771-782.
- **Timonen KL, Hoek G, Heinrich J, Bernard A et al., 2004.** Daily variation in fine and ultrafine particulate air pollution and urinary concentrations of lung Clara cell protein CC16. *61(11)*, 908-14.
- **Tore Skotland, Tore-Geir Iversen, Kirsten Sandvig., 2010.** *New metal-based nanoparticles for intravenous use: requirements for clinical success with focus on medical imaging* (Review Article) *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 730-737.
- **Usenko, C.Y., Harper, S.L., Tanguay, R.L., 2008.** Fullerene C60 exposure elicits an oxidative stress response in embryonic zebrafish. *Toxicology and Applied Pharmacology* 229, 44-55.
- **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160, 1-40.

- **Von Klot S, Wolke G, Tuch T, et al.**, Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. *Eur Respir J* 2002; 20(3):691-702.
- **Wei, C. X., Zhang, Y. B., Guo, J., Han, B., Yang, X. & Yuan, J. L. 2010a.** Effects of silica nanoparticles on growth and photosynthetic pigment contents of *Scenedesmus obliquus*. *Journal of Environmental Sciences-China* 22(1): 155-160.
- **Wei, L. P., Thakkar, M., Chen, Y. H et al., 2010b.** Cytotoxicity effects of water dispersible oxidized multiwalled carbon nanotubes on marine alga, *Dunaliella tertiolecta*. *Aquatic Toxicology* 100(2): 194-201.
- **Witschger O, Fabriès JF.** Cahiers de notes documentaires - INRS 2005 Particules ultra-fines et santé au travail. 2- Sources et caractérisation de l'exposition 199,37-54
- **Wiench, K., Wohlleben, W., Hisgen, Vet al., 2009.** Acute and chronic effects of nano- and non-nano-scale TiO₂) and ZnO particles on mobility and reproduction of the freshwater invertebrate *Daphnia magna*. *Chemosphere* 76(10): 1356- 1365.
- **Xiong, D., Fang, T., Zhu, W et al ., 2011.** Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: Acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of The Total Environment* 409, 1444-1452.
- **Zhang, A.-P., Sun, Y.-P., 2004.** Photocatalytic killing effect of TiO₂ nanoparticles on Ls-174-t human colon carcinoma cells. *World Journal of Gastroenterology* 10, 3191-3193.
- **Zhang, H.Y., Smith, A., Vinka, O., 2012.** The effect of natural water conditions on the anti-bacterial performance and stability of silver nanoparticles capped with different polymers. *Water Research* 46 (3), 691-696.
- **Zhao, C. M. & Wang, W. X., 2010.** Biokinetic Uptake and Efflux of Silver Nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology* 44(19): 7699-7704.
- **Zhu, X., Chang, Y., Chen, Y., 2009a.** Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere* 78, 209-215.
- **Zhu, X. S., Chang, Y. & Chen, Y. S., 2010.** Toxicity and bioaccumulation of TiO₂ nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*. *Chemosphere* 78(3): V-215.

Sites d'internet:

- [1] BBC Research, 2010. Nanotechnology: A Realistic Market Assessment.
<http://www.bccresearch.com/report/nanotechnology-realistic-market-assessmentnan031d.html>.consulté le 13/04/2013
- [2] Nanotechproject, 2011b. PEN The Project on Emerging Nanotechnologies – Nanotechnenabled Consumer Products Continue to Rise.
<http://www.nanotechproject.org/news/archive/9231/>.consulté le 05/05/3013
- [3] Nanotechproject, 2011a. PEN The Project on Emerging Nanotechnologies - Analysis.
http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/analysis_draft/.consulté le 10/05/2013
- [4] <http://fr.academic.ru/dic.nsf/frwiki/1576802>. consulté le 28/04/2013.
- [5] (http://www.debatpublic-nano.org/script/ntsp-document-file_download36c9.pdf?document_id=172&document_file_id=267)
Consulté le 12/05/3013
- [6]<file:///H:/nanoparticules/oxyde%20de%20fer/Nanoparticules%20d'Oxyde%20de%20Fer%20%20Les%20Nanotechnologies.htm> .consulté le 26.07.2013.
- [7] http://www.ineris.fr/centredoc/INERIS_plaquette.pdf .consulté le 12/05/3013.
- [8].<http://www.inrs.fr/accueil/recherche/etudes-publications-communications/doc/etude.html?refINRS=B.4%2F1.082> .consulté le 08/052013
- [9] [http://chimie.umons.ac.be/memoires Synthèse et évaluation de la toxicité de nanoparticules d'oxyde de fer /resumem10/abs_EL_10.pdf](http://chimie.umons.ac.be/memoires/Synthèse%20et%20évaluation%20de%20la%20toxicité%20de%20nanoparticules%20d%27oxyde%20de%20fer/resumem10/abs_EL_10.pdf) .consulté le 08/05/2013
- [10] (<http://ncbi.nlm.nih.gov/entrez/querz> .consulté le 13/05/2013
- [11] *Environmental Pollution* 163 (2012) 55e61 Titanium dioxide Nanoparticle Daphnia Food contamination Sublethal effect Nanomaterial alteration
<http://www.sciencedirect.com/science/journal/02697491>. Consulté le 25/05/2013

Annexe

Tableau : Concentrations prédites en nanoparticules de TiO₂ dans l'environnement dans différents compartiments (E-U : Etats-Unis)

Air	<0,5 ng/m ³	Europe	
	<0,5 ng/m ³	E-U	Gottschalk et al. (2009)
	0,7-3 ng/m ³	Suisse	
	1,5- 4,2 ng/m ³	/	Mueller et Nowack (2008)
Eau	0,7-16 µg/l	/	Mueller et Nowack (2008)
Eau de surface	0,5 – 8,8 µg/l	Tamise (UK)	Johnson et al. (2011)
	0,012 – 0,057 µg/l	Europe	
	0,002 – 0,01 µg/l	E-U	Gottschalk et al. (2009)
	0,016 – 0,085 µg/l	Suisse	
Effluents de stations d'épurations	2,5 – 10,8 µg/l	Europe	
	1,37 – 6,7 µg/l	E-U	Gottschalk et al. (2009)
	3,5 – 16,3 µg/l	Suisse	
Boues de station d'épuration	100 - 433 mg/kg	Europe	
	107 - 523 mg/kg	E-U	Gottschalk et al. (2009)
	172 - 802 mg/kg	Suisse	
Sol	0.4 - 4.8 µg/kg	/	Mueller et Nowack (2008)
Sédiment	273 - 1409 µg/kg/an	Europe	
	44 - 251 µg/kg/an	E-U	Gottschalk et al. (2009)
	426 - 2382 µg/kg/an	Suisse	

Résumé

La production et l'utilisation des nanomatériaux manufacturés est en plein essor, ce qui entraîne leur déversement dans l'environnement. Les nanoparticules de dioxyde de titane et d'oxyde de fer sont utilisées dans un grand nombre de produits manufacturés du fait de leurs propriétés (photocatalytiques et d'absorption des UV, propriétés magnétiques).

Les risques écotoxicologiques liés aux nanoparticules de TiO_2 , Fe_2O_3 et aux sous produits d'altération de TiO_2 sur les organismes aquatiques et terrestres sont encore peu connus, et représentent une contribution significative à la contamination générale de l'environnement, et plus particulièrement des milieux aquatiques. A cette fin, *Daphnia magna* a été utilisé comme bioindicateur étant donné qu'elle présente l'avantage d'être facile à manipuler et est utilisée dans des tests normalisés d'écotoxicité.

L'objectif de ce travail est l'élaboration d'une méthodologie d'évaluation des risques sanitaires et écotoxicologiques liés au rejet des nanoparticules dans les milieux aquatiques. Une procédure a été élaborée : pour la gestion et l'évaluation des risques générés par les NPs, via un bio-essai toxicologique à court et à long terme. Des perturbations ont été enregistrées au cours du cycle de reproduction à travers les paramètres du cycle de vie (longévitité, âge à la maturation, grandeur de ponte,...). Ces résultats nécessitent d'être vérifié par des études approfondies.

Le scénario présenté a conduit à une évaluation quantitative des risques. Il devra être amélioré sur certains aspects, particulièrement ceux concernant l'influence exacte de chaque paramètre physico-chimique dans les effets biologiques des nanoparticules de Fe_2O_3 et TiO_2 .

Mots-clés : Nanoparticules, TiO_2 , Fe_2O_3 , *Daphnia magna*, risques écotoxicologiques.

Abstract

The production and use of nanomaterials is booming, leading to discharge into the environment. The nanoparticles of titanium dioxide and iron oxide are used in many manufacturing because of their properties (photocatalyst and UV absorption, magnetic properties) products.

Ecotoxicological risks associated with nanoparticles of TiO_2 , Fe_2O_3 and TiO_2 in alteration of aquatic and terrestrial organisms produced are still little known, and represent a significant contribution to the overall contamination of the environment, particularly aquatic . To this end, *Daphnia magna* was used as bioindicator since it has the advantage of being easy to handle and is used in standard ecotoxicity tests.

The objective of this work is to develop a methodology for assessing health and ecotoxicological risks rejection of nanoparticles in aquatic environments. A procedure has been developed: for management and risk assessment generated by NPs via a toxicological bioassay short and long term Disturbances were recorded during the reproductive cycle through the life history (longevity, age at maturity, egg size, ...). These results need to be verified by further studies.

This scenario has led to a quantitative risk assessment. It will be improved in some aspects, especially concerning the exact influence of each physico-chemical parameter in the biological effects of nanoparticles of Fe_2O_3 and TiO_2 .

Keywords: Nanoparticuls, TiO_2 , Fe_2O_3 , *Daphnia magna*, ecotoxicological risks

المخلص

إنتاج واستخدام المواد متناهية الصغر في تزايد مستمر ، مما يسبب تسربها الى البيئة في شكل جزيئات أو كمنتجات متغيرة البنية .

تستخدم الجسيمات النانوية لثاني أكسيد التيتانيوم وأكسيد الحديد في العديد من المنتجات الصناعية بسبب خصائصها (محفزات ضوئية للأشعة فوق البنفسجية وخواص الإمتصاص ، والخواص المغناطيسية).

مخاطر التسمم البيئي المرتبطة بالجزيئات النانوية من TiO_2 ، Fe_2O_3 على الكائنات الحية المائية والبرية لا تزال غير معروفة جيدا، ويمثل مساهمة كبيرة في تلوث للبيئة عامة ، و المائية خاصة، تحقيقا لهذه الغاية، تم استخدام براغيث الماء وهذا باعتبارها المؤشرات الرئيسية لجودة النظم الإيكولوجية المائية.

برغوث الماء دافنيا ماغنا ستروس يستخدم كونه سهل في التعامل ، ويستخدم في اختبارات السمية الإيكولوجية القياسية. لذا كان الهدف من هذا العمل وضع منهجية لتقييم المخاطر الصحية التسمم البيئي لهذه الجسيمات النانوية المتروكة و المتسربة إلى الماء خاصة. و وضع الإجراءات المناسبة ل: لإدارة وتقييم المخاطر التي تولدها على برغوث الماء من خلال دراسة التسمم الحاد(قصير الأجل) و المزمن (طويل الأجل) كما تم تسجيل المخاطر و التأثيرات من خلال المؤشرات المسجلة على دورة الحياة لهذا الكائن(العمر، وضع البيض،و العمر عند البلوغ ...). لكن تحتاج هذه النتائج للتدقيق من خلال دراسات معمقة هذا السيناريو يمكن من تقييم المخاطر نصف الكمية. سيتم تحسينه في بعض الجوانب، ولا سيما تلك المتعلقة بما يخص السمية طويلة الأجل على الكائنات المستهدفة.

الكلمات المفتاحية: الجزيئات النانوية، دافنيا ماغنا، أسيد التيتانيوم الثنائي، أكسيد الحديد، السمية البيئية