

Titre: Influence des propriétés physico-chimiques des sols sur le potentiel d'écotoxicité terrestre du cuivre dans le contexte de l'analyse du cycle de vie
Title:

Auteur: Catherine Daoust
Author:

Date: 2004

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Daoust, C. (2004). Influence des propriétés physico-chimiques des sols sur le potentiel d'écotoxicité terrestre du cuivre dans le contexte de l'analyse du cycle de vie [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.
Citation: <https://publications.polymtl.ca/7473/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/7473/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Louise Deschênes, & Réjean Samson
Advisors:

Programme: Non spécifié
Program:

NOTE TO USERS

This reproduction is the best copy available.

UMI[®]

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

INFLUENCE DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS
SUR LE POTENTIEL D'ÉCOTOXICITÉ TERRESTRE DU CUIVRE
DANS LE CONTEXTE DE L'ANALYSE DU CYCLE DE VIE

CATHERINE DAOUST
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU MÉMOIRE DE MAITRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CHIMIQUE)
JUN 2004



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 0-612-97937-7

Our file Notre référence

ISBN: 0-612-97937-7

NOTICE:

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

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

AVIS:

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

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

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

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

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

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

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

INFLUENCE DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS
SUR LE POTENTIEL D'ÉCOTOXICITÉ TERRESTRE DU CUIVRE
DANS LE CONTEXTE DE L'ANALYSE DU CYCLE DE VIE

présenté par: DAOUST Catherine

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

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

M. CHAOUKI Jamal, Ph.D., président

Mme DESCHÊNES Louise, Ph.D., membre et directrice de recherche

M. SAMSON Réjean, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. SAUVÉ Sébastien, Ph.D., membre

À toute ma famille pour leur soutien et leur patience,

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier en premier lieu ma directrice de recherche Pr. Louise Deschênes qui m'a conseillée et soutenue tout au long de ma maîtrise, de même que mon codirecteur Pr. Réjean Samson qui m'a permis de participer à plusieurs conférences de même qu'à un stage en Suisse avec des experts internationaux en ACV. Je tiens aussi à souligner l'investissement des fonds VRQ dans le présent projet.

Au sein de la Chaire CRSNG, je tiens à remercier Manon Leduc et Lucie Jean pour leur expertise et pour leur support moral lors de la partie expérimentale de ma maîtrise (!), de même qu'Émilie Charbonneau pour son apport au projet pendant son stage parmi nous. Je tiens également à remercier Pr. Gérald Zagury ainsi que Pr. Sébastien Sauvé pour leurs conseils judicieux et l'intérêt accordé à mon projet.

Un gros merci au Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ), particulièrement à M. Christian Bastien et M. Réjean Lemire, pour leur collaboration au projet connu sous le nom de «cuivre».

Lors de mon séjour à l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), j'ai eu l'occasion de travailler avec des gens fort sympathiques que je tiens à remercier pour leur contribution et l'intérêt qu'ils ont accordé à mon projet: Manuele Margni, David Pennington, Pr. Kristin Becker, Pr. Olivier Jolliet, et tout particulièrement Jérôme Payet pour son support constant et son enthousiasme débordant.

Finalement, je voudrais souligner l'importance de tous les membres de la Chaire et du CIRAIG qui m'ont soutenue et encouragée dans la réalisation de ce projet par des conseils d'ordre scientifique ou philosophique!

RÉSUMÉ

L'évaluation de l'écotoxicité terrestre des métaux en Analyse du Cycle de Vie (ACV) est fortement influencée par l'intégration à l'infini du potentiel toxique des émissions. Effectivement, les métaux ne peuvent pas se dégrader dans l'environnement. En considérant la concentration totale de métal présente dans les sols comme source de toxicité, tel que les méthodes actuelles le font, plusieurs études aboutissent à une dominance des potentiels d'impacts associés aux métaux. Or, il est connu que la concentration totale de métal n'est pas la seule variable à influencer la réponse toxique des organismes terrestres. Seule une fraction du métal total, variable selon les caractéristiques des sols, est disponible et potentiellement toxique. Également, l'adsorption, facteur important contrôlant la mobilité du métal vers d'autres compartiments de l'environnement, dépend également des caractéristiques des sols.

La littérature portant sur la problématique des métaux dans les sols se sépare en deux thèmes : la relation entre le fractionnement du métal et les propriétés des sols, et la relation entre les extractions chimiques et la concentration en métaux dans les tissus des organismes. Les publications portant sur l'influence des propriétés des sols sur la réponse toxique associée aux métaux sont peu nombreuses. Or, l'évaluation du potentiel toxique des métaux sur l'écosystème terrestre en ACV nécessite la connaissance du comportement de trois espèces minimum pour une gamme représentative de sols.

De plus, plusieurs observations à l'effet qu'une contamination vieillie sur le terrain présente une toxicité plus faible par rapport à une contamination fraîche en laboratoire ont été rapportées dans la littérature. Cependant, l'évolution de la toxicité issue d'une même contamination en fonction du temps est peu documentée.

Le but de cette étude était de vérifier si l'intégration des caractéristiques des sols dans l'évaluation de l'écotoxicité terrestre du cuivre en ACV pouvait influencer de façon significative les facteurs de caractérisation des métaux.

Pour ce faire, des manipulations expérimentales effectuées sur des sols contaminés par le cuivre ont permis d'étudier la variabilité de la réponse toxique en fonction des types de sol et du temps dans des conditions d'alternance mouillage-séchage. Un design statistique comportant 10 sols différents du point de vue de leur pH (5.5 et 7.5) ainsi que de leur contenu en matière organique (1-30%) et en argile (5-35%) a été constitué afin d'inclure la majorité des sols retrouvés au Canada. Ces sols artificiels ont été contaminés à l'aide de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, selon une procédure de contamination incluant une étape de lixiviation. Afin de caractériser le fractionnement du cuivre dans les sols, des extractions parallèles, en plus de la détermination du cuivre total, ont été réalisées avec trois agents chimiques différents: eau déionisée, solution de CaCl_2 0.5M et solution d'acide diéthylènetriamine-pentaacétique (DTPA). De plus, des tests écotoxicologiques standard ont été réalisés sur *Hordeum vulgare* (croissance) et *Eisenia fetida* (mortalité). Par la suite, les sols à pH 7.5 ont poursuivi une période de vieillissement de 16 semaines et ont subi une série de cycles mouillage-séchage. Les analyses chimiques et toxicologiques effectuées sur les sols contaminés au temps initial ont été repris à la fin du vieillissement pour évaluer l'influence du temps sur la contamination par le cuivre.

L'intégration des résultats expérimentaux dans le contexte de l'ACV a été réalisée à l'intérieur de la méthode IMPACT 2002+. Les facteurs de sort et d'effet du cuivre ont été calculés pour deux sols différents représentant deux Écozones distinctes : le Bouclier boréal et les Prairies. Les changements apportés au facteur de sort se limitent à une modification du coefficient d'adsorption (K_d) en fonction des propriétés des sols. Les facteurs d'effet ont aussi été modifiés en fonction des propriétés des sols à partir des relations développées dans la partie expérimentale du projet.

L'analyse chimique des sols contaminés a révélé que le cuivre retenu dans les sols lors de la contamination varie de 30 à 100% de la charge appliquée de 6000 mg/kg. Le cuivre retenu se lie principalement à la phase solide des sols sauf dans le loam sableux qui est pauvre en argile et en matière organique et dont le pH est de 5,5 et dans lequel 72% du cuivre se retrouve dans la phase aqueuse. La partition du cuivre entre la phase solide et aqueuse est principalement gouvernée par le pH (80%), puis par la matière organique et l'argile. En ce sens, les valeurs de K_d ont varié de 14 L/kg dans le loam sableux à pH 5.5 et à 34 000 L/kg dans le loam argileux à pH 7.5.

D'autre part, les réponses toxicologiques obtenues sur les sols contaminés varient de 10 à 100% d'effet pour la mortalité du ver de compost et de 40 à 100% pour l'inhibition de la croissance de l'orge (tige et racines). La combinaison des analyses écotoxicologique et chimique montre une mauvaise relation entre le cuivre total retenu dans le sol et les réponses toxiques, de même qu'entre celles-ci et la fraction extraite au DTPA. La fraction dissoute et échangeable est la fraction de cuivre qui exprime le mieux la toxicité dans tous les sols ($r=0.66$, $p<0.01$). Par ailleurs, le cuivre dissout et échangeable ne peut expliquer les réponses toxiques au pH 5.5 ni au pH 7.5 pris séparément. Des régressions établies directement avec les caractéristiques des sols ont permis de mieux expliquer la variabilité de la réponse toxique. En effet, la concentration en cuivre total combiné au pH, au contenu en matière organique et en argile a permis d'expliquer 92% de la variabilité associée à l'inhibition de la croissance des racines chez *Hordeum vulgare*, 74% de la variabilité associée à l'inhibition de l'élongation de son feuillage et 48% de la mortalité de *Eisenia fetida*.

L'effet du temps sur la contamination du cuivre a montré peu de différences significatives entre la réponse toxique avant et après vieillissement. Cependant, une diminution de la fraction dissoute et échangeable dans les sols organiques a été observée, accompagnée d'une diminution de l'inhibition de la croissance de l'orge (5-

15%). Dans ce cas, le cuivre a pu passer d'une fraction échangeable à une fraction complexée plus fortement avec la matière organique solide. Parallèlement, une augmentation du carbone organique dissout (DOC) après un premier cycle de mouillage/séchage, suivie d'une diminution jusqu'à la fin du vieillissement a été observée dans tous les sols, entraînant possiblement une redistribution du cuivre complexé en solution vers d'autres fractions du sol.

Finalement, l'intégration des résultats expérimentaux à l'intérieur de la méthode d'évaluation des impacts du cycle de vie IMPACT 2002+ montre une différence significative entre les potentiels d'impacts écotoxiques du cuivre associés aux deux sols des deux écozones étudiées. Tout d'abord, le facteur de devenir environnemental correspondant au temps de résidence du métal dans les sols a varié de 2 ordres de grandeur : de 0,88 an dans les sols du Bouclier boréal à 82,7 ans dans les sols des Prairies. La grande dépendance du K_d envers le pH est responsable de ce résultat. Puis, les facteurs d'effet associés au cuivre exprimés en fraction d'espèces potentiellement disparues (PDF) ont varié d'un ordre de grandeur entre les deux environnements terrestres : de 0,05 PDF.m²/kg pour les Prairies à 0,23 PDF.m²/kg pour le Bouclier boréal. L'hypothèse de recherche est donc confirmée : l'intégration des propriétés des sols peut influencer de façon significative l'évaluation du potentiel écotoxique des métaux en ACV.

ABSTRACT

Evaluation of terrestrial ecotoxicity of metals within the context of Life-Cycle Impact Assessment (LCIA) is strongly influenced by time-integrated toxic potential of emissions. In fact, metals do not degrade in environment. Considering soil total metal concentration as a source of toxicity, as actual methods do, often leads to LCIA potential impacts being dominated by metals ecotoxic impact. Nevertheless, it is well-recognized that total metal concentration is not sufficient to explain variations in the toxicological response of terrestrial organisms. Only a fraction of total metal, dependent on soil characteristics, is available and potentially toxic. Furthermore, metal adsorption, which is determining the mobility of metal to other environmental compartments, also depends on soil properties.

The literature on the topic of metals in soils segregates in two groups: studies relating partitioning to soil properties and publications relating chemically extracted fractions to metal uptake in organisms. Few research projects were done on the influence of soil properties on metal ecotoxicity. Existing studies focussed on specific species, while ecotoxicity potential assessment in the context of LCA needs the knowledge of at least three species behaviour for a representative range of soils. Moreover, the weaker toxicity of field contaminations compared to freshly spiked soils in laboratory is well-known. However, the evolution of the toxicity of a single contamination is not well-documented.

The aim of this research project was to evaluate if the integration of soil properties within life-cycle assessment of terrestrial ecotoxicity contributes significantly to the variability of metals' characterization factors of metals.

First, experiments realized on copper contaminated soils allowed the study of the variability of the toxic responses according to soil types and time under wetting and

drying conditions. A statistical design including ten (10) different soils was established evolving pH (5.5 and 7.5), and organic matter (1-30%) and clay (5-35%) contents. The experiment was designed to cover the usual range of soil properties observed in Canadian soils. Those artificial soils were spiked with a $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solution following a spiking procedure which included a lixiviation step. Total copper was determined and parallel chemical extractions were performed with: deionised water, 0.5M CaCl_2 solution and DTPA. Moreover, standard bioassays were performed using *Hordeum vulgare* (growth) and *Eisenia fetida* (mortality). After, soils at pH 7.5 pursued a 16-week ageing period following wetting and drying cycles. Chemical and toxicological analyses done initially on contaminated soils were repeated at the end of the ageing period to assess influence of time on copper contamination.

Integration of experimental results in the context of LCA was realized using the IMPACT 2002+ method. Copper fate and exposure factors were estimated for two different soils from two distinct ecozones: the Boreal shield and the Prairies. Changes brought to fate factors consisted in a modification of adsorption coefficient (K_d) depending on soil properties. Effect factors were also modified depending on soil properties using regressions developed in the experimental part of the project.

Chemical analysis of contaminated soils showed the soil solids retained from 30% to 100% of the total copper applied at 6000 mg/kg. Total copper in most soils was highly adsorbed at the solid phase surface, except in the sandy loam which has a low content of clay and organic matter and pH 5.5 where 72% of its total copper was found in the dissolved fraction. Copper partitioning between dissolved and solid phase was mainly explained by pH (80%) and, to a lesser extent, by organic matter and clay. In fact, K_d values varied from 14L/kg in the sandy loam at pH 5.5 to 33 000 L/kg in the clay loam at pH 7.5.

On the other hand, ecotoxic responses in contaminated soils varied from 10 to 100% for *Eisenia fetida* mortality and from 40 to 100% for *Hordeum vulgare* growth inhibition (root and shoot). Combination between bioassays and chemical analyses showed poor relation between total copper concentration and toxic responses and between toxic responses and DTPA extracted copper fraction. The dissolved and exchangeable fractions were the best predictors of toxicity ($r=0.6$, $p<0.01$). However, dissolved and exchangeable copper concentrations could not explain toxic responses at pH 5.5 nor at pH 7.5 taken separately. Direct regressions with soils characteristics allowed a better explanation of toxicity variability. In fact, total copper concentration combined to pH, organic matter and clay content explained 92% of root growth inhibition variability, 74% of shoot growth variability and 48% of *E. fetida* mortality variability.

Ageing effect on copper contamination showed few significant differences in toxic response between initial time and after wetting and drying cycles of soils at pH 7.5. However, a decrease in the dissolved and exchangeable fraction for organic soils and a decrease in barley growth inhibition (5-15%) were observed. In this case, copper might have redistributed from exchangeable sites to a stronger complexed fraction within the solid phase. In parallel, an increase in dissolved organic carbon (DOC) after a first wetting and drying cycle, followed by a decrease in DOC until the end of ageing were observed in every soil, possibly leading to a redistribution of copper complexed with organic matter in solution.

Finally, integration of experimental results in the context of LCA performed with IMPACT 2002+ showed significant differences between ecotoxic potential associated to the two ecozones studied. First, soil fate factors associated with each zone differed by 2 orders of magnitude: from 0.88 year in the Shield soil to 82.7 years in the Prairies. The fate factor dependency on K_d is responsible for this result. There after, copper effect factors varied by an order of magnitude between the two terrestrial

ecosystems: from 0.05 PDF.m²/kg for the Prairies to 0.23 PDF.m²/kg for the Boreal shield. Final results given by copper characterization factors demonstrated a significant difference between ecozones. Our research hypothesis is confirmed: soil properties have a significant influence in the ecotoxicity potential assessment of metals in LCA.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	iv
REMERCIEMENTS	v
RÉSUMÉ	vi
ABSTRACT	x
TABLE DES MATIÈRES.....	xiv
LISTE DES TABLEAUX	xviii
LISTE DES FIGURES	xix
LISTE DES ANNEXES	xx
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xxii
CHAPITRE 1 - INTRODUCTION	1
1.1 Problématique.....	1
1.2 Hypothèse et objectifs	4
1.2.1 Hypothèse	4
1.2.2 Objectifs	4
CHAPITRE 2 - REVUE DE LITTÉRATURE	5
2.1 Analyse du cycle de vie (ACV).....	6
2.1.1 Méthodologie de l'ACV	7
2.1.1.1 Définition des objectifs et du champ de l'étude	7
2.1.1.2 Analyse de l'inventaire.....	8
2.1.1.3 Évaluation des impacts du cycle de vie (É ICV).....	8
2.1.1.4 Interprétation	12
2.1.1.5 Principales méthodes d'évaluation des impacts du cycle de vie	12
2.1.2 Évaluation de l'impact écotoxicologique terrestre	13
2.1.2.1 Facteur d'effet (E)	14

2.1.2.2	Facteur de sort et d'exposition (F).....	17
2.1.3	IMPACT 2002 +.....	20
2.1.4	Limites des méthodes actuelles pour les métaux.....	25
2.2	Sources de contamination par le cuivre.....	28
2.3	Devenir du cuivre dans les sols	29
2.3.1	Distribution physico-chimique des métaux dans les sols.....	29
2.3.2	Détermination de la disponibilité chimique	31
2.3.2.1	Extractions chimiques	32
2.3.2.3	Spéciation et modélisation thermodynamique.....	34
2.3.3	Détermination du K_d	35
2.3.4	Cinétique de la disponibilité chimique	40
2.4	Exposition des organismes terrestres au cuivre.....	41
2.4.1	Concept de biodisponibilité.....	41
2.4.2	Identification de la fraction biodisponible.....	42
2.4.3	Variabilité selon les caractéristiques des sols.....	43
2.4.4	Variabilité selon les organismes.....	44
2.4.4.1	Les plantes terrestres	44
2.4.4.2	Les décomposeurs	45
2.5	Effets écotoxicologiques du cuivre	45
2.5.1	Influence du type de sol.....	45
2.5.2	Influence du temps	48
2.6	Conclusion.....	49
CHAPITRE 3 – APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE		51
3.1	Analyse statistique des données écotoxicologiques de la littérature	51
3.2	Influence du temps et des propriétés des sols sur l'écotoxicité du Cu	51
3.3	Intégration des résultats dans le contexte de l'ÉICV.....	52

CHAPITRE 4 -ANALYSE STATISTIQUE DE LA LITTÉRATURE	54
4.1 Introduction	55
4.2 Méthodologie.....	55
4.2.1 Provenance des données écotoxicologiques.....	55
4.2.2 Choix des variables.....	56
4.3 Résultats et discussion.....	57
4.3.1 Influence des propriétés des sols à l'échelle de l'écosystème terrestre	57
4.3.2 Influence des propriétés des sols sur les végétaux et les invertébrés ...	58
4.3.3 Influence des propriétés des sols sur la mortalité de <i>Eisenia fetida</i>	60
4.4 Conclusion.....	61
CHAPITRE 5 – INFLUENCE DU TEMPS ET DES PROPRIÉTÉS DES SOLS SUR LA TOXICITÉ DU CUIVRE HORDEUM VULGARE ET EISENIA FETIDA.....	62
5.1 Présentation de l'article	62
5.2 Influence of soil properties and ageing on copper toxicological effect on <i>Eisenia fetida</i> and <i>Hordeum vulgare</i>	63
5.2.1 Abstract.....	63
5.2.2 Introduction	64
5.2.3 Materials and Methods	66
5.2.3.1 Soil composition.....	66
5.2.3.2 Soil contamination.....	69
5.2.3.3 Experimental design	70
5.2.3.4 Physicochemical characterization of soils.....	70
5.2.3.5 Chemical extractions and analysis.....	71
5.2.3.6 Ecotoxicological analysis	73
5.2.3.7 Statistical analysis	74
5.2.4 Results and discussion.....	75

5.2.4.1	Physico-chemical characteristics.....	75
5.2.4.2	Total copper concentration	76
5.2.4.3	Chemically extracted fractions of copper.....	78
5.2.4.4	Ecotoxic response associated to copper contaminated soils.....	81
5.2.5	Conclusion.....	90
5.2.6	Acknowledgement.....	91
5.2.7	Literature cited.....	91
CHAPITRE 6 – INFLUENCE DES CARACTÉRISTIQUES DES SOLS SUR LE POTENTIEL ÉCOTOXIQUE DU CUIVRE EN ANALYSE DU CYCLE DE VIE ..		97
6.1	Introduction	98
6.2	Méthodologie.....	99
6.2.1	Facteurs de caractérisation de l'impact écotoxique et scénarios	99
6.2.2	Développement du facteur de sort et d'exposition (FF).....	100
6.2.3	Développement du facteur d'effet (EF).....	102
6.3	Résultats et discussion.....	104
6.3.1	Facteurs de sort et exposition	104
6.3.2	Facteurs d'effet.....	107
6.3.3	Impact toxicologique sur l'écosystème terrestre	109
6.4	Conclusion.....	113
CHAPITRE 7 – DISCUSSION GÉNÉRALE.....		115
CHAPITRE 8 – CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS.....		121
8.1	Conclusions générales	121
8.2	Recommandations	122
RÉFÉRENCES.....		125
ANNEXES		155

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1: Catégories d'impacts du cycle de vie	9
Tableau 2.2 : Caractérisation de l'écotoxicité terrestre des métaux en ACV	26
Tableau 2.3: Corrélations disponibles dans la littérature pour l'adsorption du cuivre sur la phase solide du sol	39
Tableau 2.4: Résultats d'une série d'études reliant l'écotoxicité et les types de sol	47
Tableau 4.1 : Corrélation entre les EC_{50} et propriétés des sols r (p)	58
– groupe de données : écosystème terrestre	58
Tableau 4.2 : Corrélation entre les EC_{50} et les propriétés des sols r (p)	59
– groupe de données : végétaux (n=17)	59
Tableau 4.3 : Corrélation entre les EC_{50} et les propriétés des sols r (p)	60
– groupe de données : effets chroniques chez les invertébrés (n=13)	60
Tableau 4.4: Corrélation entre les EC_{50} et les propriétés des sols r (p)	60
– groupe de données : mortalité chez les invertébrés	60
Table 5.1: Contaminated soils physicochemical properties (t=0 week)	76
Table 5.2. Total copper concentration and partitioning in the contaminated soils (t = 0 and 16 weeks)	77
Table 5.3: Correlation coefficients (r) between chemically extracted fractions of copper (t= 0 week)	79
Table 5.4: Correlations between toxic responses and copper fractions (t= 0 week)	83
Table 5.5: Regressions between toxic responses and soil properties (t=0 week)	84
Tableau 6.1: Caractéristiques géographiques associés aux Écozones étudiées	100
Tableau 6.2: Mobilité du cuivre selon les zones géographiques	105
Tableau 6.3: Résultats de la modélisation avec IMPACT 2002	105
Tableau 6.4: Réponse toxique du cuivre (mg Cu/kg)	107
Tableau 6.5: Facteurs d'effet du cuivre développés avec la méthode AMI	108
Tableau 6.6 : Calcul du potentiel d'impact toxique du cuivre sur l'écosystème terrestre.	110

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: Phases du cycle de vie selon l'Organisation internationale de normalisation	7
Figure 2.2 : Classification des flux de l'inventaire.....	10
Figure 2.3 : Distribution de sensibilité des espèces (SSD).....	15
Figure 2.4 : Pentas marginale et moyenne.....	16
Figure 2.5 : Structure du modèle IMPACT 2002	22
(tiré de Pennington <i>et al.</i> , 2003)	22
Figure 3.1 : Approche méthodologique	53
Figure 5.2: Evolution of DOC over time in contaminated soils.....	81
Figure 5.3: Toxic effects of copper on non contaminated soils	82
Figure 5.4: Analysis of residues for <i>Hordeum vulgare</i> root elongation inhibition (A), shoot elongation inhibition (B) and <i>Eisenia fetida</i> mortality (C).....	86
Figure 5.5: Ecotoxicity of copper in before and after ageing - Mortality of <i>Eisenia</i> <i>fetida</i> (A); Inhibition of <i>Hordeum vulgare</i> shoot elongation (B); Inhibition of <i>H. vulgare</i> root elongation (C)	89
Figure 6.1 : Potentiel d'impact écotoxique terrestre associé à une émission de 1 kg de cuivre à l'atmosphère	111

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I: Données écotoxicologiques sur le cuivre	156
ANNEXE II : Protocoles expérimentaux	162
II.1 Constitution de sols synthétiques selon un design expérimental statistique...	163
II.2 Contamination des sols synthétiques au sulfate de cuivre.....	167
II.3 Détermination de la fraction soluble, soluble et échangeable (CaCl ₂ et DTPA), de l'ion libre, de la quantité totale de calcium et de cuivre, du carbone organique dissous et des anions (Cl, SO ₄ et NO ₃) à d'extractions simples.....	172
II.4 Méthode de détermination de la Capacité d'Echange Cationique (CEC)	182
II.5 Détermination de la matière organique par combustion à 550°C.....	189
II.6 Détermination du pH d'un sol à l'aide d'un pH-mètre.....	193
II.7 Détermination du poids sec d'un sol.....	197
II.8 Capacité de rétention d'eau au champ d'un échantillon de sol.....	203
II.9 Dénombrement des micro-organismes hétérotrophes par la méthode du nombre le plus probable (NPP)	207
II.10 Vieillissement de sols contaminés en laboratoire suivant des cycles de mouillage-séchage	216
ANNEXE III : Caractéristiques des constituants des sols.....	219
III.1 Argile.....	220
III.2 Limon	220
III.3 Sable	221
III.4 Tourbe.....	222
ANNEXE IV: Résultats expérimentaux bruts.....	226

ANNEXE IV: Résultats expérimentaux bruts	226
IV. 1 Caractéristiques des sols	227
IV.2 Extractions chimiques	229
IV.3 Toxicité initiale	233
IV.4 Suivi des caractéristiques des sols dans le temps.....	237
IV.5 Évolution du fractionnement dans le temps	241
IV.6 Toxicité au temps final	243
ANNEXE V: Résultats supplémentaires	246
ANNEXE VI : Exemple de calcul de facteurs de caractérisation	250

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACV	Analyse du Cycle de Vie
AMI	Assessment Median Impact
CCA	Arséniate de Cuivre Chromaté
CEC	Capacité d'Échange Cationique
DOC	Dissolved Organic Carbon (carbone organique dissout)
DOM	Dissolved Organic Matter
DTPA	Acide Diéthylènetriamine Pentaacétique
EC ₅₀ (ou CE ₅₀)	Concentration provoquant 50% d'effets sur l'espèce testée
EF	Effect Factor (facteur d'effet)
ÉICV	Évaluation des Impacts du Cycle de Vie
EPA (ou USEPA)	Environmental Protection Agency
FC	Facteur de Caractérisation
FF	Fate Factor (facteur de sort et d'exposition)
HC	Hazard Concentration
ISO	International Standard Organization
LC ₅₀ (ou CL ₅₀)	Concentration provoquant 50% de létalité sur l'espèce testée
NOEC	No Observable Effect Concentration (Concentration sans effet)
PAF	Potentially Affected Fraction (fraction des espèces
potentiellement	affectées)
PDF	Potentially Disappeared Fraction
PNEC	Predicted No-Effect Concentration
SETAC	Society of Environmental Toxicology and Chemistry
SSD	Species Sensitivity Distribution

CHAPITRE 1 - INTRODUCTION

1.1 Problématique

L'analyse du cycle de vie (ACV) est une méthode d'évaluation des impacts environnementaux qui étudie chacune des phases du cycle de vie des produits et procédés, de l'extraction des matières premières à la disposition finale. L'ACV permet la caractérisation d'impacts environnementaux potentiels à l'échelle globale, régionale et locale. Les impacts locaux, tels que la toxicité humaine, l'écotoxicité terrestre et aquatique, dépendent des propriétés physico-chimiques et biologiques du milieu récepteur. Dans le contexte de l'ACV, ces catégories d'impacts sont difficiles à estimer étant donné la variabilité de ces propriétés d'un site à l'autre et le nombre de sites qui peuvent être impliqués dans une ACV. Dans ce contexte, le niveau de spécificité géographique qui devrait être utilisé en ACV ne fait pas l'objet d'un consensus international (Hertwich *et al.*, 2002).

Afin d'estimer le potentiel écotoxique de l'émission environnementale (S) d'une substance i , la charge émise (M_i) est multipliée par un facteur de caractérisation qui prend en compte les trois éléments suivants : le *sort* du contaminant dans les différents compartiments de l'environnement (air, eau, sol,...), l'*exposition* des récepteurs à la substance toxique et l'*effet* de ce contaminant sur les récepteurs (Jolliet, 1996). Dans le cas des récepteurs autres que les humains, i.e. les écosystèmes terrestre et aquatique, l'exposition est considérée égale à la masse totale présente dans le compartiment sol ou eau, respectivement. En d'autres mots, la modélisation du sort suffit à déterminer l'exposition. L'équation (1) traduit le lien entre les différentes composantes de l'évaluation du potentiel écotoxique (S) :

$$S_i^{n,m} = E_i^m F_i^{n,m} M_i^n \quad (1)$$

- Où E_i^m : effet de la substance i sur les organismes du médium récepteur m
 $F_i^{m,n}$: fraction de la substance i provenant du médium n et transférée
 au médium m
 M_i^n : masse totale de contaminant i émis dans le médium n

Le facteur F de *sort* (et *exposition*) est évalué à l'aide de modèles plus ou moins complexes qui utilisent des coefficients de partition spécifiques aux substances. Les modèles multi compartiments, tels qu'IMPACT 2002, sont de plus en plus utilisés dans le domaine des ACV vu leur approche détaillée des processus environnementaux (Huijbregts *et al.*, 2000a; Pennington *et al.*, 2003; Bare *et al.*, 2003). Ils utilisent une série d'équations du premier ordre afin de décrire des phénomènes comme la biodégradation, l'advection et les transports inter-media. Le facteur F calculé par IMPACT 2002 constitue l'exposition des récepteurs par unité d'émission massique intégrée sur un temps infini (Pennington *et al.*, 2003). Le facteur d'*effet* (E), quant à lui, est basé sur des résultats de tests toxicologiques effectués en laboratoire, tels que des NOEC (No Observable Effect Concentration) ou EC_{50} (Concentration à laquelle on observe 50% d'effet).

Dans le contexte de l'ACV, la caractérisation du potentiel toxique des métaux sur l'écosystème terrestre pose un problème majeur. Tout d'abord, les méthodes actuelles utilisées pour déterminer le *sort* des émissions, telles qu'IMPACT 2002, emploient des coefficients de partition basés sur des valeurs expérimentales moyennes (Pennington *et al.*, 2003; Huijbregts *et al.*, 2000a; Hauschild et Wenzel, 1997). Or, il est reconnu que le coefficient de partition sol/eau (K_d) des métaux varie largement selon les propriétés des sols, principalement le pH et la teneur en matière organique. À titre d'exemple, des valeurs de K_d pour le cuivre rapportées de 452 études varient de 6,8 à 82 850 L/kg (Sauvé *et al.*, 2000).

Il est également connu que la masse totale de métal retrouvée dans un sol ($M^n * F^{nsoil}$) est un mauvais indicateur du potentiel toxique de celui-ci. Seule une fraction de cette masse, appelée fraction biodisponible, variable selon les propriétés des sols, peut atteindre le récepteur et générer une réponse toxique (Lock et Janssen, 2001e). Un facteur d'exposition pourrait, par conséquent, être calculé lors de la caractérisation du potentiel écotoxique.

De plus, des observations scientifiques font état d'une diminution de la mobilité du métal et du potentiel écotoxique suivant le vieillissement d'une contamination (Smit et Van Gestel, 1998; Lock et Janssen, 2003a; Han *et al.*, 2001). Une intégration de l'exposition sur un temps infini ne tenant pas compte de cette dynamique peut possiblement fausser les résultats du potentiel écotoxique terrestre des métaux. Les corrélations reliant les propriétés des sols, la mobilité des métaux et la réponse toxique d'organismes représentant l'écosystème terrestre sont peu nombreuses dans la littérature.

De plus, le manque de données écotoxicologiques qui représentent l'écosystème terrestre a comme conséquence l'utilisation de données aquatiques dans le développement du facteur d'*effet* (E) associé à l'écotoxicité terrestre (Hauschild *et Wenzel*, 1997; Pennington *et al.*, 2003). Ceci entraîne une incertitude inconnue en ce qui concerne la représentativité environnementale de l'évaluation de l'impact toxique (van Beelen *et al.*, 2003).

En résumé, les propriétés des sols influencent la caractérisation du potentiel écotoxique des métaux via la modélisation du *sort*, de l'*exposition* et de l'*effet*. Par ailleurs, il est nécessaire d'établir quantitativement l'influence de ces paramètres sur les facteurs de caractérisation écotoxiques des métaux et, par conséquent, d'évaluer l'importance de l'intégration d'un niveau de spécificité géographique dans le calcul des potentiels d'impacts de l'écotoxicité terrestre en analyse du cycle de vie.

1.2 Hypothèse et objectifs

1.2.1 Hypothèse

Les propriétés des sols et le temps peuvent influencer de façon significative l'évaluation des facteurs de caractérisation associés au potentiel d'écotoxicité terrestre en ACV.

1.2.2 Objectifs

- 1) Établir des corrélations entre les caractéristiques principales des sols et la réponse écotoxique du cuivre sur deux organismes terrestres;
- 2) Étudier l'influence du vieillissement sur le fractionnement et la réponse écotoxique du cuivre;
- 3) Proposer une méthode d'intégration de la biodisponibilité du cuivre dans la méthode IMPACT 2002+;
- 4) Étudier l'influence de l'intégration des propriétés des sols et du temps dans l'évaluation du potentiel d'écotoxicité terrestre avec la méthode IMPACT 2002+.

CHAPITRE 2 - REVUE DE LITTÉRATURE

Le chapitre 2 a pour but de situer la présente étude dans le contexte de l'état actuel des connaissances scientifiques.

La première partie de ce chapitre décrit les concepts théoriques soutenant l'évaluation des impacts en ACV et met en évidence la problématique spécifique des métaux dans ce contexte. Puis, les sources de contamination par le cuivre sont identifiées et les connaissances sur le devenir de ce métal dans le sol, ainsi que les méthodologies utilisées pour le caractériser sont décrites. La section suivante résume les travaux publiés à ce jour concernant la biodisponibilité du cuivre dans l'environnement terrestre. Finalement, une revue des études portant sur la variabilité des réponses toxiques associées aux caractéristiques des sols et au temps a été réalisée.

2.1 Analyse du cycle de vie (ACV)

L'analyse du cycle de vie est un outil d'évaluation des impacts environnementaux potentiels associés à tout le cycle de vie d'un produit ou d'une activité, i.e. de l'acquisition des matières premières à la disposition finale en passant par les phases de production, de transport et d'utilisation (ISO 14040, 1997). En estimant la contribution de tous les flux entrants et sortants du cycle de vie à un ensemble de catégories d'impacts globaux, régionaux et locaux, l'ACV se distingue des autres méthodes d'évaluation environnementale.

Ce type d'outil permet la comparaison de la performance environnementale de plusieurs options ayant la même *unité fonctionnelle*, c'est-à-dire des produits ou services qui joueront la même *fonction* pendant la même *période*. Il permet également d'identifier les transferts possibles de problématiques environnementales d'une étape du cycle de vie à l'autre ou d'une catégorie d'impacts à une autre (Wrisberg *et al.*, 2002).

La figure 2.1 présente le cadre méthodologique de l'ACV. Il se divise en quatre (4) étapes, soit la définition des objectifs et du champ de l'étude, l'analyse de l'inventaire, l'analyse des impacts et l'interprétation. Chacune des phases de l'ACV est normalisée par l'*International Standard Organization* (ISO 14040, 1997).

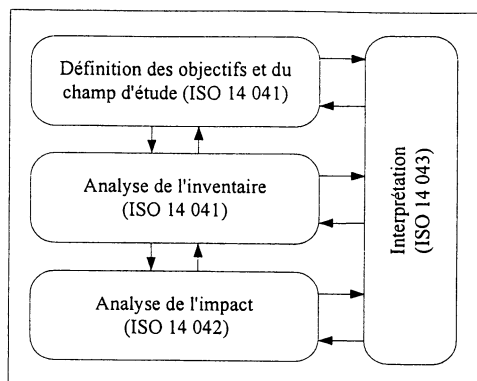


Figure 2.1: Phases du cycle de vie selon l'Organisation internationale de normalisation

Les prochaines sections présentent ces 4 étapes de manière plus détaillée.

2.1.1 Méthodologie de l'ACV

2.1.1.1 Définition des objectifs et du champ de l'étude

Le but visé par l'ACV est établi en fonction de l'application envisagée pour l'étude ainsi que du public cible. Cet objectif conditionne le degré de sophistication de l'analyse qui sera effectuée ainsi que les choix méthodologiques à privilégier.

L'unité fonctionnelle, les frontières du système de même que la qualité des données, qui seront nécessaires pour atteindre l'objectif, sont déterminées. L'unité fonctionnelle pourrait être, par exemple, l'alimentation d'un habitant en boisson gazeuse pour un an (10L). Toute hypothèse posée pour le déroulement de l'étude est également mentionnée.

2.1.1.2 Analyse de l'inventaire

À cette étape, les flux entrants et sortants de tous les procédés unitaires du cycle de vie à l'étude sont identifiés et quantifiés. Les flux sont, par la suite, normalisés en fonction de l'unité fonctionnelle choisie à l'étape précédente. Par exemple, les émissions d'une aluminerie seront normalisées en fonction de la quantité d'aluminium nécessaire à la fabrication du nombre de canettes qui serviront à alimenter en boisson gazeuse 1 habitant pendant 1 année (10L).

La quantification des flux est réalisée à l'aide de données primaires, i.e. provenant des procédés réels à l'étude, ou, en l'absence d'informations disponibles, de données secondaires, i.e. de bases de données génériques.

2.1.1.3 Évaluation des impacts du cycle de vie (É ICV)

La phase d'évaluation des impacts du cycle de vie se sépare elle-même en 4 étapes:

- choix des catégories d'impacts,
- classification des flux de l'inventaire,
- caractérisation,
- normalisation, pondération et agrégation.

Les trois premières étapes sont obligatoires dans la réalisation d'une ACV, alors que les autres sont facultatives. Toutes ces étapes sont reprises et expliquées de façon plus détaillée ci-après selon ISO 14042 (ISO, 1997).

▪ *Choix des catégories d'impacts*

Les grands thèmes environnementaux (ou aires de protection) généralement abordés dans l'analyse du cycle de vie sont la préservation des ressources, la santé humaine, la qualité de l'écosystème et l'environnement bâti. Ces thèmes regroupent des catégories d'impacts distinctes qui sont définies par un mécanisme environnemental propre (Udo de Haes *et al.*, 2002). Les catégories d'impacts identifiées doivent être cohérentes avec les objectifs et le champ de l'étude. Le mécanisme environnemental reliant le flux de l'inventaire à la catégorie d'impacts doit être scientifiquement reconnu et documenté. Les catégories d'impacts doivent être indépendantes l'une de l'autre, c'est-à-dire que le double comptage des flux de l'inventaire dans deux ou plusieurs catégories doit être évité. Par ailleurs, chacun des aspects environnementaux du système étudié doit être représenté par une ou plusieurs des catégories d'impacts choisies.

Le tableau 2.1 présente les principales catégories d'impacts qui font l'objet d'un consensus international, regroupées selon l'échelle de l'environnement qu'ils affectent (Udo de Haes *et al.*, 2002). En effet, les flux de l'inventaire peuvent entraîner des impacts environnementaux à différentes échelles : globale, régionale et locale.

Tableau 2.1: Catégories d'impacts du cycle de vie

Catégories d'impacts	Échelle
- Ressources abiotiques	Globale
- Ressources biotiques	
- Réchauffement global	
- Destruction de la couche d'ozone	
- Acidification	Régionale
- Eutrophisation	
- Ozone photochimique	

- Utilisation des terres	
- Écotoxicité aquatique	Locale
- Écotoxicité terrestre	
- Toxicité humaine	

▪ *Classification des flux de l'inventaire*

À cette étape, les flux de l'inventaire sont classés suivant les catégories d'impacts auxquelles ils contribuent. Lorsque le flux contribue à plus d'une catégorie d'impacts, les mécanismes environnementaux qui le relient à ces catégories d'impacts doivent être distincts. La figure 2.2 illustre l'étape de classification.

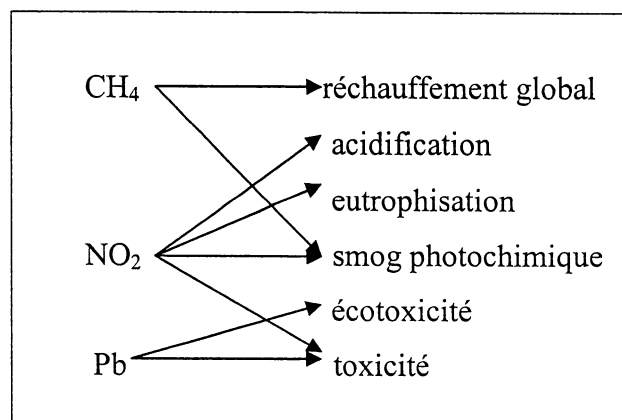


Figure 2.2 : Classification des flux de l'inventaire

Par exemple, le NO₂ contribue à l'acidification en formant de l'acide nitrique avec l'eau de pluie et contribue également à l'eutrophisation en fournissant l'élément essentiel N à la croissance des végétaux. Il s'agit de deux mécanismes environnementaux distincts et parallèles.

▪ *Caractérisation*

Les flux massiques M des substances i associés à chaque catégorie d'impacts j sont convertis en unités communes suivant le mécanisme environnemental définissant l'impact, puis agrégés en un indicateur d'impacts (S_i). La conversion en unités équivalentes se fait par le biais de facteurs de caractérisation (FC_{ij})

$$S_j = \sum M_i * FC_{ij}$$

En général, les facteurs de caractérisation sont exprimés en fonction d'une substance de référence. À titre d'exemple, les émissions de CH_4 sont converties en équivalent CO_2 à l'intérieur de la catégorie « réchauffement global » grâce à un facteur de caractérisation qui quantifie le potentiel de réchauffement global de ce gaz par rapport à celui du CO_2 .

▪ *Normalisation, pondération et agrégation*

Les étapes de *normalisation*, de *pondération* et d'*agrégation* sont des étapes facultatives de l'évaluation des impacts. La *normalisation* consiste à mettre sur une base adimensionnelle les résultats de la caractérisation. Ceci permet de comparer les catégories d'impacts entre elles. Généralement, les valeurs de référence par lesquelles sont divisés les résultats de la caractérisation sont : les émissions ou utilisations de ressources pour une zone géographique donnée (globale, régionale ou locale) ou un scénario de référence. La *pondération* attribue une importance relative aux différentes catégories d'impacts permettant de calculer un indicateur final unique (*agrégation*). La *pondération* est une étape subjective qui peut se faire de différentes façons, soit : monétarisation, valeurs cibles ou normes, sondage, etc. (Udo de Haes *et al.*, 2002).

2.1.1.4 Interprétation

La dernière phase de l'ACV est une procédure systématique qui consiste à identifier, qualifier, vérifier et évaluer l'information qui ressort de l'analyse de l'inventaire et de l'analyse des impacts du système pour que celle-ci rencontre les exigences de l'objectif et du champ de l'étude. C'est pour cette raison que l'ACV est considérée comme un processus itératif. En effet, au fur et à mesure que l'analyse progresse, il faut évaluer ce qui est fait et ajuster, s'il le faut, le but et les limites de l'étude ou encore effectuer de nouveau l'analyse pour rencontrer les objectifs.

2.1.1.5 Principales méthodes d'évaluation des impacts du cycle de vie

Les principales méthodes actuellement utilisées pour l'évaluation des impacts dans le contexte de l'ACV sont : EDIP 97, Eco-indicator 99, CML, TRACI et IMPACT 2002+.

Tout d'abord, la méthode danoise *EDIP 97* (Hauschild et Wenzel, 1997) utilise une méthodologie simple, sans différenciation spatiale, pour caractériser les impacts environnementaux au niveau du problème (réchauffement global, acidification, écotoxicité, etc.). L'évaluation du potentiel écotoxique, par exemple, s'effectue en suivant un algorithme simple basé sur des propriétés clés des substances.

Puis, la méthode néerlandaise *Eco-indicator 99* (Goedkoop et Spriensma, 1999) a été développée dans le but de fournir aux designers de produit des éco-indicateurs pour plusieurs matériaux ou modes de production. Eco-indicator 99 caractérise les dommages sur la santé humaine, la qualité de l'écosystème et les ressources. Il s'agit d'une méthode plus complexe qui intègre le plus de connaissances scientifiques possibles portant sur les mécanismes environnementaux. Les substances causant des

impacts au niveau régional sont modélisées à l'échelle des Pays-Bas, alors que le sort des substances toxiques dans l'environnement est estimé à l'échelle européenne.

Le guide CML est une autre méthode néerlandaise d'évaluation des impacts (Guinée *et al.*, 2000). En reprenant plusieurs éléments de la méthode EDIP, cette approche « problèmes » intègre également les résultats d'autres développements scientifiques, notamment la modélisation multi compartiments spécifique au contexte de l'ACV: USES-LCA.

Ensuite, l'USEPA a développé la méthode TRACI (Bare *et al.*, 2002). Celle-ci intègre plusieurs éléments de différenciation spatiale notamment pour les catégories d'impacts suivantes: smog, acidification, eutrophisation et utilisation des terres. Il s'agit de la première méthode adaptée au contexte américain.

Finalement, la méthode IMPACT 2002+ développée par le Life Cycle Systems Group de l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne (Jolliet *et al.*, 2003) comporte beaucoup de similarité avec la méthode Eco-indicator 99 à l'exception des catégories d'impacts toxicité et écotoxicité pour lesquelles ils ont développé le modèle multi compartiments IMPACT 2002. Ce modèle de devenir et exposition prend en charge plusieurs phénomènes environnementaux complexes et propose une différenciation spatiale plus fine à l'intérieur de l'Europe.

2.1.2 Évaluation de l'impact écotoxicologique terrestre

Le premier groupe de travail de la SETAC sur l'évaluation des impacts du cycle de vie (ÉICV) a recommandé l'utilisation d'un facteur de caractérisation pour l'écotoxicité qui intègre un facteur d'effet (E) ainsi qu'un facteur de sort et d'exposition (F) (Jolliet *et al.*, 1996) :

$$S_i^{n,m} = E_i^m F_i^{n,m} M_i^n \quad 2-1$$

Où E_i^m : effet de la substance i sur les organismes du médium récepteur m

$F_i^{m,n}$: fraction de la substance i provenant du médium n et transférée au médium m

M_i^n : masse totale de contaminant i émis dans le médium n

La façon de calculer ce facteur de caractérisation ne fait pas l'objet d'un consensus international. En effet, plusieurs méthodes de caractérisation existent et sont utilisées dans la réalisation d'ACV (Hertwich *et al.*, 2002; Hauschild et Pennington, 2002). Ces méthodes diffèrent dans leur façon respective d'exprimer la complexité des processus environnementaux (facteur de sort et d'exposition), ainsi que par l'indicateur d'impacts choisi (facteur d'effet).

2.1.2.1 Facteur d'effet (E)

Le facteur d'*effet* est une valeur de référence spécifique à chaque contaminant. La charge de contaminant à laquelle sont exposés les organismes récepteurs est comparée à ce facteur afin d'estimer l'ampleur de l'impact.

Il existe trois méthodes principales pour quantifier l'effet d'un contaminant sur les écosystèmes (Hauschild et Pennington, 2002): les méthodes utilisant les PNEC (*Predicted No Effect Concentration*) et la méthode AMI (*Assessment of the Median Impact*), des approches dites moyennes, ainsi que l'approche marginale combi-PAF utilisée dans *Eco-Indicator 99*.

Toutes ces méthodes sont inspirées du concept probabiliste SSD (*Species Sensitivity Distribution*) (Posthuma, 2001). Les courbes SSD sont des distributions paramétriques

constituées à partir d'un maximum de données écotoxicologiques pour chaque contaminant (généralement des NOEC- No Observable Effect Concentration). La figure 2.3 est un exemple de courbe SSD. Elles représentent une fonction cumulative d'effets sur les organismes d'un écosystème en fonction de la concentration du contaminant. La moyenne de la fonction est appelée HC_{50} (Concentration dangereuse pour 50% des espèces). À cette concentration, 50% des espèces sont potentiellement affectées (PAF) au-dessus de leur NOEC.

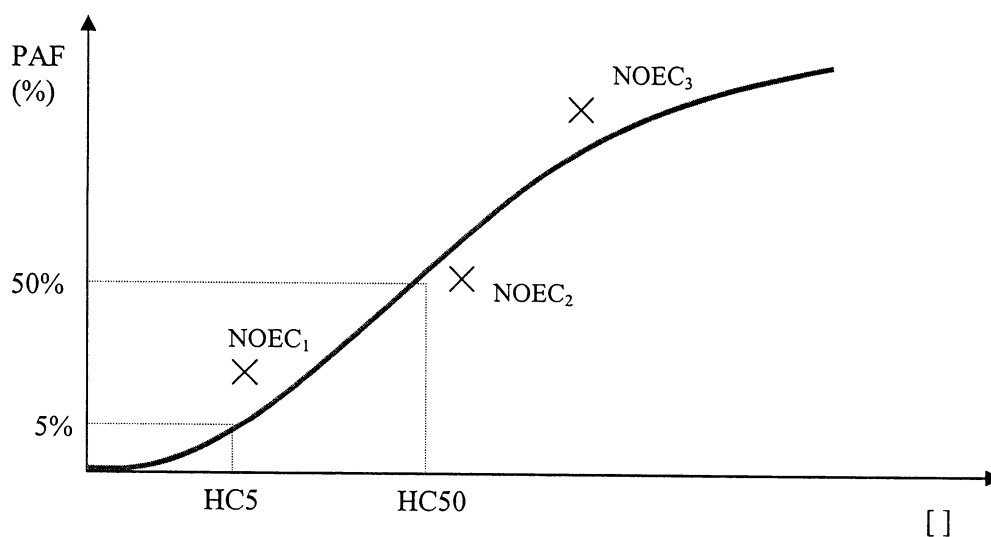


Figure 2.3 : Distribution de sensibilité des espèces (SSD)

La figure 2.4 indique graphiquement la différence entre une approche moyenne et une approche marginale. L'approche moyenne (ou pente sécante) considère que l'accroissement de concentration d'une substance toxique dans l'environnement (ΔC) causera un effet directement proportionnel à la valeur de référence, soit la HC_5 ou la HC_{50} . L'approche marginale (ou pente tangente) propose également une augmentation linéaire de l'effet, mais en fonction de la concentration déjà présente dans l'environnement (endroit précis sur la courbe SSD). Pour ce faire, il faut connaître le niveau d'effet déjà présent dans le milieu récepteur.

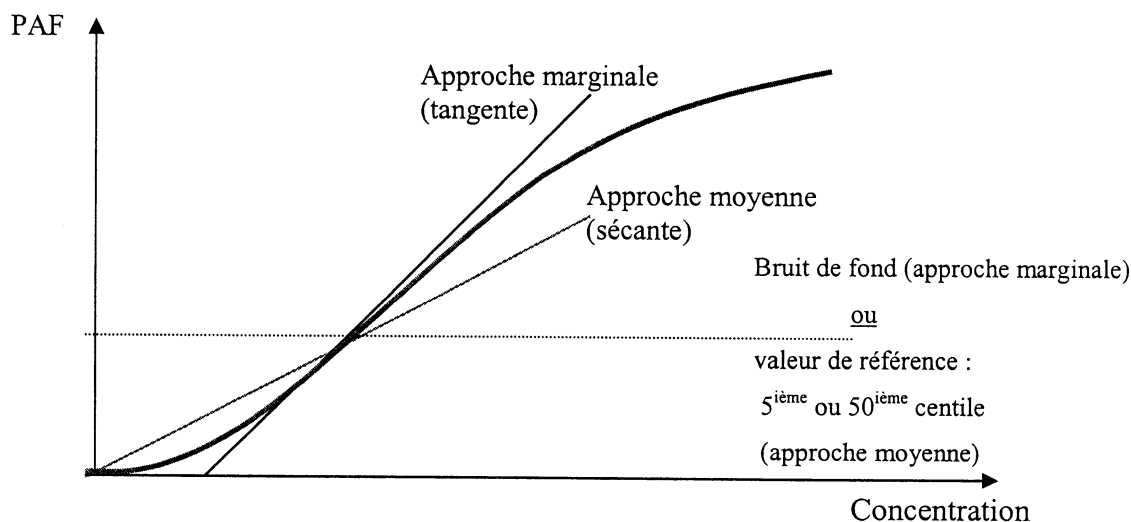


Figure 2.4 : Pentes marginale et moyenne

- Méthode utilisant la PNEC

La PNEC représente la valeur du 5^e centile (HC₅) de la courbe SSD bâtie avec des valeurs de NOEC (voir figure 2.4). La PNEC ainsi calculée de façon probabiliste correspond à un niveau de protection de 95% des espèces. Cette méthodologie est utilisée dans la méthode américaine d'évaluation des impacts du cycle de vie: TRACI (Bare *et al.*, 2002).

La PNEC peut également être calculée de façon déterministe à partir de quelques données écotoxicologiques comme des NOEC ou EC₅₀ ainsi que des facteurs de sécurité fixés en fonction de la quantité et de la qualité des données utilisées. La méthode ÉICV EDIP 1997 utilise cette façon de faire (Hauschild et Wenzel, 1997). Par exemple, si les données écotoxicologiques disponibles sous forme de NOEC pour

une substance donnée font référence à un seul niveau trophique, alors la plus petite valeur trouvée sera divisée par un facteur de sécurité égal à 100 (EC, 1996).

- *Assessment of Median Impact (AMI)*

La méthode AMI, utilisée dans IMPACT 2002+, est également inspirée du concept de sensibilité des espèces, mais s'en distingue par deux aspects importants (Payet et Jolliet, 2003). D'abord, aucune distribution statistique n'est supposée afin de relier les données écotoxicologiques; il s'agit d'une méthode non-paramétrique. La méthode AMI utilise plutôt la moyenne géométrique d'un bassin de données (HC_{50}). De plus, ce bassin de données constitué d'au moins trois données de phylum différents est composé de EC_{50} plutôt que de NOEC étant donné les nombreuses critiques adressées aux NOEC. Notamment, le niveau d'effet des NOEC est très variable. Il se situe entre 10-34% selon Crane et Newman (2000).

- *Combi-PAF*

La méthode combi-PAF, utilisée par Eco-indicator 99, est une approche marginale, c'est-à-dire qu'elle considère la pente de la courbe SSD au niveau du bruit de fond dans le calcul de l'augmentation de l'impact. L'accroissement de la concentration causée par les processus étudiés à un niveau au-dessus de la moyenne des NOEC (HC_{50}) entraîne un effet proportionnel à cette pente tangente. Des études révèlent que le bruit de fond d'espèces affectées en Europe se situe entre 10 et 50% (Goedkoop and Spriensma, 1999).

2.1.2.2 Facteur de sort et d'exposition (F)

Les facteurs de devenir environnemental des substances sont calculés à partir de modèles plus ou moins complexes. Des méthodes telles qu'EDIP 1997 évaluent par un algorithme simple développé à partir de quelques propriétés clés des substances, la fraction massique des émissions qui se retrouve dans l'eau, le sol, l'air, etc. (Hauschild et Wenzel, 1997).

Par des méthodes mathématiques plus complexes, la modélisation multi compartiments tente également d'estimer le sort et l'exposition des contaminants dans les différents compartiments. D'abord utilisée pour les analyses de risque, son utilisation est maintenant largement répandue en ACV (Udo de Haes *et al.*, 2002).

Ces modèles évaluent la répartition des polluants dans les différents compartiments de l'environnement selon les propriétés physico-chimiques des substances et des média, telles que les coefficients de partition, les pressions de vapeur, les cinétiques de dégradation, d'advection et de transport.

L'équation de base des modèles multi compartiments pour une substance i est la suivante :

$$\frac{d\mathbf{M}_i(t)}{dt} = \mathbf{A}_i * \mathbf{M}_i(t) + \mathbf{S}_i \quad 2-2$$

où

$\mathbf{M}(t)$: vecteur colonne de la masse présente dans chacun des compartiments à l'instant t (kg)

\mathbf{A} : matrice des coefficients déterminant le sort du contaminant (an^{-1})

\mathbf{S} : vecteur colonne des émissions et des importations pour chaque compartiment (kg/an)

La matrice A_i est constituée de coefficients qui caractérisent la dégradation de la substance, l'advection et le transport entre les média. Habituellement, le modèle est utilisé en régime permanent, i.e. pour des émissions continues. Dans le contexte de l'ACV, l'exposition des récepteurs correspond à l'intégration sur un temps infini du devenir d'une émission instantanée (Huijbregts, 2000b). En faisant l'hypothèse des processus de 1^{er} ordre, les mêmes modèles peuvent être utilisés pour caractériser l'exposition due à une émission continue par unité d'émission et due à une émission instantanée intégrée à l'infini. En effet, Heijungs (1995) et Guinée *et al.* (1996) ont démontré que le modèle en régime permanent résulte en une même exposition que l'intégrale de l'émission instantanée (M_0) de $t=0$ à ∞ dans un système gouverné par des cinétiques de 1^{er} ordre.

Une adaptation des modèles pour l'utilisation en ACV est toutefois nécessaire afin d'éviter les pertes de masse non quantifiées à l'extérieur de la zone étudiée. Une des deux méthodes suivantes est généralement utilisée :

- 1) modifier artificiellement la vitesse du vent et de l'eau;
- 2) entourer la zone d'étude, d'une zone correspondant au « reste du monde ».

Dans un autre ordre d'idées, les modèles multi compartiments existants sont caractérisés par différents niveaux de différenciation spatiale. La plupart des modèles sont génériques, c'est-à-dire qu'ils considèrent des caractéristiques homogènes sur une large zone géographique. C'est le cas de CalTOX développé par le US EPA (McKone, 1993), de EQC (Mackay *et al.*, 1996) et de SimpleBOX (van de Meent, 1993). TRACI (adaptation de CalTOX), USES-LCA (Huijbregts, 2000a) et IMPACT 2002 version a-spatiale (Pennington *et al.*, 2003) sont des modèles génériques utilisés spécifiquement en ACV. Le premier est appliqué aux États-Unis, alors que les deux autres modélisent l'Europe occidentale.

Par ailleurs, quelques modèles multi compartiments tels que BETR (MacLeod *et al.*, 2001) et le modèle IMPACT 2002 (version spatiale) considèrent des sub-divisions en régions plus petites afin d'inclure la variabilité régionale des paramètres géographiques.

À cet effet, deux études récentes (Huijbregts *et al.*, 2003; Hertwich *et al.*, 1999) ont démontré que la variabilité des caractéristiques géographiques avaient peu d'influence sur les résultats de la modélisation du sort dans les modèles multi compartiments USES-LCA et CalTOX par rapport à la variabilité des propriétés des substances chimiques. Des facteurs de 2 à 10 ont été trouvés entre les facteurs de sort et exposition associés à des zones géographiques différentes (Huijbregts *et al.*, 2003).

2.1.3 IMPACT 2002 +

La méthode d'évaluation des impacts IMPACT 2002+¹ est une méthode récente, scientifiquement reconnue et facilement adaptable à d'autres contextes géographiques (De Koning *et al.*, 2002). Pour ces raisons, cette méthode sera utilisée au chapitre 5 afin d'évaluer le potentiel écotoxique du cuivre sur l'écosystème terrestre. La méthodologie utilisée par IMPACT 2002+ pour quantifier l'écotoxicité terrestre se scinde en deux parties :

- facteur de sort et exposition (modèle multi compartiments IMPACT 2002²);
- facteur d'effet (méthode AMI).

¹ IMPACT 2002+ : méthode d'évaluation des impacts du cycle de vie (plusieurs catégories d'impacts)

² IMPACT 2002 : modèle multi compartiments qui permet d'estimer le facteur de sort et exposition des substances toxiques et écotoxiques (catégorie d'impacts : écotoxicité et toxicité humaine)

➤ Facteur de sort et exposition : IMPACT 2002

Le modèle IMPACT 2002 est un modèle multi compartiments qui calcule l'exposition des différents récepteurs vivants aux émissions instantanées de polluants intégrées sur un temps infini.

Afin de simplifier les explications liées à ce modèle, les hypothèses et calculs qui lui sont propres seront d'abord appliqués à un modèle comportant un seul compartiment pour ensuite être extrapolés au modèle multi compartiments.

Pour un modèle à un compartiment ($n=1$), l'évolution de la masse initiale émise instantanément (M_0) peut être exprimée par l'équation suivante si on suppose des cinétiques de premier ordre pour les processus de dégradation, de pertes par advection et de pertes par transport inter-média:

$$\frac{dM}{dt} = -k \cdot M_t, \text{ donc } M_t = M_0 \exp(-kt) \quad 2-3$$

où k est le taux de disparition total de la substance (jours^{-1}). En intégrant M_t sur un temps infini, on obtient l'exposition intégrée dans le temps par unité de masse via la formule suivante :

$$\frac{1}{M_0} \int_0^t M dt = \frac{1}{k} \quad 2-4$$

De la même façon, dans le modèle multi compartiments ($n>1$), l'exposition intégrée dans le temps peut être estimée en divisant la fraction de la masse totale émise qui est transférée à ce compartiment (F_{mn}), par le taux de disparition de la substance spécifique au compartiment (k_n):

$$\frac{\int_0^t M_n, dt}{M} = \frac{1}{k_n V_n} \cdot F_{nm} \quad 2-5$$

Le coefficient k_n est la somme des processus parallèles d'élimination de la substance: la dégradation ($k_{n,deg}$), l'advection ($k_{n,adv}$) et les transports inter-media (k_{nm}). La source d'émission à un compartiment (F_{nm}) est la fraction d'une source à un autre compartiment (S_m) qui est transférée à ce compartiment (n).

Les calculs réalisés avec IMPACT 2002 pour obtenir un facteur de sort et exposition intégré dans le temps sont basés sur des matrices de taille $n \times n$ où n est le nombre de compartiments. Les résultats issus de la modélisation du sort et de l'exposition correspondent au temps de résidence des substances dans les différents médias par unité d'émission.

La figure suivante indique de façon générale le fonctionnement du modèle.

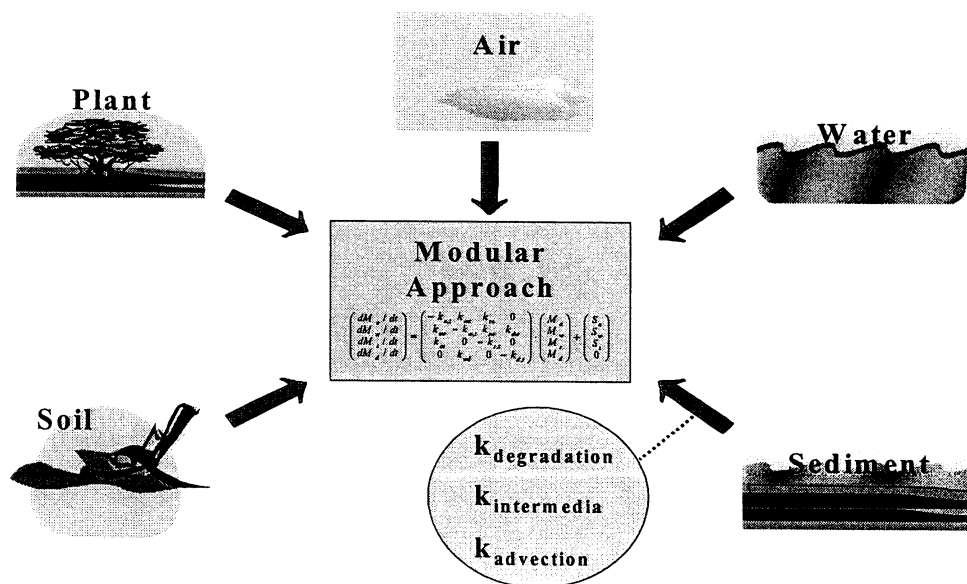


Figure 2.5 : Structure du modèle IMPACT 2002

(tiré de Pennington *et al.*, 2003)

Plus spécifiquement, le modèle traite le sort des *métaux* présents dans les *sols* en fonction de deux processus physico-chimiques:

1. l'équilibre entre les différentes phases présentes dans le sol (eau, sol) ;
2. le transport par l'eau porale vers la nappe phréatique.

En effet, les métaux peuvent être adsorbés sur les particules solides ou solubilisés dans l'eau des pores. Puis, l'eau des pores subit un mouvement descendant qui dépend du régime des pluies et de la porosité du sol. En ce sens, les éléments clés influençant le facteur de sort et d'exposition des métaux dans les sols modélisé avec le modèle IMPACT 2002 sont le coefficient d'équilibre entre l'eau et le sol (K_d – concept présenté dans la section 2.3.1), le régime des précipitations et la porosité du sol.

➤ Facteur d'effet : AMI

Les calculs issus de la méthode AMI, déjà introduite à la section précédente (2.1.2), sont détaillés ci-après (Payet et Jolliet 2003).

D'abord, la moyenne géométrique, ou moyenne des valeurs \log_{10} , des données écotoxicologiques sous forme de EC_{50} est calculée. Cette moyenne est notée HC_{50} , i.e. la concentration affectant potentiellement 50% des espèces terrestres au-dessus de leur EC_{50} . Un nombre maximum de données écotoxicologiques est souhaitable pour développer une HC_{50} en limitant l'incertitude qui lui est associée.

$$\log HC_{50} = \frac{\sum \log EC_{50sn}}{n} \quad 2-6$$

HC_{50} : concentration affectant potentiellement 50% des espèces ($kg\ m^{-3}$)

EC_{50sn} : concentration avec effet pour 50% de la population d'une espèce s ($kg\ m^{-3}$)
 n : nombre de données

Les valeurs de EC_{50} doivent être transformées de mg/kg à mg/m^3 en utilisant la masse volumique du sol.

L'équation suivante décrit les calculs nécessaires à l'évaluation du facteur d'effet proprement dit. Le facteur d'effet (EF) utilisé dans le calcul du facteur de caractérisation (FC) est exprimé en fractions d'espèces potentiellement disparues intégrée sur la surface de la zone géographique étudiées par unité de masse de substance toxique ($PDF\ m^2kg^{-1}$). Son calcul correspond à la pente linéaire de l'effet en fonction de la concentration dans le sol ($50\%/HC_{50}$) divisée par la hauteur de sol (h) et un facteur $\frac{1}{2}$. Ce dernier facteur correspond à la transformation des PAF à PDF, i.e. d'espèces potentiellement affectées à espèces potentiellement disparues (Goedkoop et Spriensma, 1999)³.

$$EF = \frac{1}{2} * \frac{0,5}{HC_{50}} * \frac{1}{h} \quad [PDF\ m^2kg^{-1}] \quad 2-7$$

Finalement, la méthode AMI suggère l'utilisation des relations suivantes pour le calcul des intervalles de confiance à 95% basés sur une distribution non paramétrique des données échantillonnées:

$$\text{Log } HC_{50} \pm n^{-0,5} t_{n-1}^{0,05} \text{ SDev } (EC_{50}) \quad 2-8$$

$$\text{Sdev}(EC_{50}) = [(n-1)^{-1} \sum (\log EC_{50} - \log HC_{50})^2]^{0,5} \quad 2-9$$

HC_{50} : moyenne géométrique des valeurs de EC_{50}

³ Le facteur $\frac{1}{2}$ est basé sur le ratio entre 100% et 50% de la population d'une espèce qui subit un effet. L'espèce finira par disparaître si toute la population d'une espèce (100%) subit un effet (dans une perspective d'intégration à l'infini).

EC_{50} : concentration avec 50% d'effet sur une espèce

Sdev : déviation standard

n : nombre de données (EC_{50})

$t_{n-1}^{0,05}$: 95^{ième} centile associé à un échantillon de n données par la loi t de Student

2.1.4 Limites des méthodes actuelles pour les métaux

Afin d'estimer le potentiel écotoxique d'une émission environnementale (S) d'une substance i , la charge émise (M_i) est multipliée par un facteur de caractérisation qui considère les éléments suivants : le *sort* du contaminant dans les différents compartiments et l'*exposition* des récepteurs à la substance toxique (F), ainsi que l'*effet* de ce contaminant sur les récepteurs (E) (Jolliet *et al.*, 1996).

$$S_i^{n,m} = E_i^m F_i^{n,m} M_i^n$$

Où E : effet de la substance i sur les organismes du médium récepteur m

F : fraction de la substance i provenant du médium n et transférée au médium m

M : masse totale de contaminant i émis dans le médium n

La plupart des méthodes actuelles utilisées pour déterminer le *sort* ou la distribution des métaux dans les différents compartiments emploient des coefficients de partition basés sur des valeurs expérimentales moyennes (Pennington *et al.*, 2003; Huijbregts *et al.*, 2000a; Hauschild et Wenzel, 1997). Or, il est reconnu que le coefficient de partition sol/eau des métaux varie largement selon les propriétés des sols, principalement le pH et la teneur en matière organique. À titre d'exemple, des valeurs de K_d variant de 3 ordres de grandeur ou plus ont été trouvées dans la littérature pour le cuivre, l'arsenic, le cadmium, le nickel, le plomb et le zinc (Sauvé *et al.*, 2000).

Le tableau 2.2 indique les paramètres utilisés par les différentes méthodes ÉICV pour caractériser l'écotoxicité terrestre.

D'autre part, il est également connu que la masse totale de métal retrouvée dans un sol ($M^n * F^{nsoil}$) est un mauvais indicateur du potentiel toxique de celui-ci. Seule une fraction de cette masse, appelée fraction biodisponible, variable selon les propriétés des sols, peut atteindre le récepteur et générer une réponse toxique (Lock et Janssen, 2001e). En d'autres termes, les récepteurs peuvent être *exposés* à une fraction toxique du métal qui varie selon les types de sol.

Sachant que les métaux ne peuvent disparaître des sols que par les processus de transport inter-media (aucune dégradation ou advection), une intégration à l'infini du *sort* et de l'*exposition* entraîne de grands temps de résidence associés aux métaux (Huijbregts *et al.*, 2000b). De grands temps de résidence conduisent automatiquement à des facteurs de caractérisation élevés dans les méthodes d'évaluation des impacts où l'exposition de l'écosystème terrestre est reliée à la masse totale des métaux dans les sols. Dans ces cas, l'impact associé aux émissions métalliques tend à être dominant (Huijbregts, 2000b).

Tableau 2.2 : Caractérisation de l'écotoxicité terrestre des métaux en ACV

Modèles	Sort	Exposition	Effet
Ecoindicator 99	Approximation de Kow, p°	métal dissout	Données aquatiques et terrestres
TRACI (CalTOX)	Kd moyen	métal total	Données aquatiques et terrestres
CML 2001 (USES-LCA)	Kd moyen	métal total	Données aquatiques et terrestres
EDIP	Kd moyen	métal dissout	Données aquatiques

IMPACT 2002	Kd moyen	métal dissout	Données aquatiques
-------------	----------	---------------	--------------------

Enfin, le manque de données écotoxicologiques qui représentent l'écosystème terrestre pour certains métaux a comme conséquence l'utilisation de données aquatiques dans le développement du facteur d'effet (E) associé à l'écotoxicité terrestre (Hauschild et Wenzel, 1997; Pennington *et al.*, 2003). Ceci entraîne une incertitude inconnue en ce qui concerne la représentativité environnementale de l'évaluation de l'impact toxique (van Beelen *et al.*, 2003).

Par ailleurs, Huijbregts (1999) reprenant les résultats de Crommentuijn *et al.* (1997) a proposé d'appliquer, dans le contexte de l'ACV, une normalisation des réponses toxiques (NOEC et EC₅₀) selon la teneur en matière organique et en argile des sols testés. Cette normalisation, faite à partir de plusieurs tests écotoxicologiques effectués parallèlement sur des sols différents et sur le médium OCDE, n'est appliquée à aucune méthode d'évaluation des impacts.

Malgré la pertinence de l'approche, plusieurs critiques pourraient y être adressées. Tout d'abord, le rôle du pH est négligé alors qu'il apparaît être le facteur dominant dans la variation du fractionnement, de la spéciation et de la biodisponibilité de plusieurs métaux dans les sols (Buchter *et al.*, 1989; Krishnamurti et Naidu, 2002; Impelliteri *et al.*, 2003). Aussi, une étude écotoxicologique réalisée sur *Enchytraeus albidus* révèle des réponses différentes selon les différents types d'argile et de matière organique utilisés (Lock et Janssen, 2001). Selon ces mêmes auteurs, la CEC serait un meilleur indicateur du changement dans la réponse toxique.

Finalement, un autre facteur semble influencer la caractérisation de l'écotoxicité terrestre des métaux : le temps. En effet, des observations scientifiques font état d'une diminution de la mobilité du métal et du potentiel écotoxique suivant le vieillissement d'une contamination (Smit et Van Gestel, 1998; Lock et Janssen, 2003a; Han *et al.*,

2001). Une intégration de l'exposition sur un temps infini ne tenant pas compte de cette dynamique peut possiblement fausser les résultats du potentiel écotoxique terrestre des métaux.

En résumé, les propriétés des sols influencent la caractérisation du potentiel écotoxique des métaux via la modélisation du *sort*, de l'*exposition* et de l'*effet*. Les résultats actuellement calculés sont erronés, puisque le métal présent dans le sol n'est, ni totalement disponible pour les organismes terrestres, ni disponible de façon équivalente dans le temps.

2.2 Sources de contamination par le cuivre

Le cuivre est un métal largement utilisé dans la société d'aujourd'hui. Ses propriétés de malléabilité, ductilité et conductivité en font un matériau de choix pour les fils électriques de même que les conduites d'eau et de vapeur. Le cuivre est aussi utilisé en agriculture en tant que fertilisant, bactéricide ou fongicide. Il est principalement extrait au Chili (23%), puis aux États-Unis, au Canada, en Russie et en Australie (Adriano, 2001).

Le cuivre est un élément essentiel à la vie, notamment pour l'écosystème terrestre. Une concentration totale entre 5 et 30 mg/kg est suffisante pour le bon développement des cultures agricoles, alors qu'au-delà de 20 à 100 mg/kg, le cuivre peut représenter une substance toxique et en dessous de 2 à 5 mg/kg, les organismes souffriront de déficience (Edwards, 1998). Les sols qui montrent une déficience en cuivre sont rares. Ce sont des sols très riches en calcaire ou en tourbe, des sables lessivés ou des sols fortement fertilisés. Certains sols des Prairies canadiennes, par exemple, sont déficients en cuivre (Penney, 1988). Par ailleurs, la valeur moyenne de concentration dans les sols du monde est de 30 mg/kg [2-250] (Adriano, 2001).

D'autre part, de nombreux sites contaminés ont été identifiés à travers le monde. À titre d'exemple, des concentrations jusqu'à 11700 mg/kg sol sec ont été retrouvées près des mines de cuivre au Japon (Kunito *et al.*, 1999), des concentrations jusqu'à 7260 mg/kg ont été mesurées près de statues de bronze en Belgique (Lock et Janssen, 2003b) et des concentrations jusqu'à 1500 mg/kg sont communément observées dans les sols de surface des vignobles français (Chaignon *et al.*, 2003). Selon le répertoire des terrains contaminés du Québec (2001), 332 terrains contaminés à plus de 500 mg/kg de cuivre ont été répertoriés dans la province.

Globalement, les principales sources anthropiques de cuivre sont: les fongicides, le $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ et le $\text{Cu}(\text{OH})_2$, ainsi que les émissions provenant des mines et fonderies de cuivre ou de zinc: CuS_2 , CuO et particules métalliques (Adriano, 2001).

Plus spécifiquement au Québec, le cuivre est utilisé par les éleveurs de porc comme agent pro-biotique pour réduire les problèmes intestinaux. Ainsi, une importante quantité de cuivre est éliminée dans le lisier et se retrouve dans les sols après l'épandage. Des concentrations atteignant plus de 1000 mg/kg de Cu ont été mesurées dans la fraction solide du lisier de porc (Côté et Seydoux, 2003). Le cuivre se retrouve également dans le mélange de cuivre arséniate chromaté appliqué aux poteaux de bois qui soutiennent les fils électriques et téléphoniques de même qu'au bois traité destiné à l'usage domestique.

2.3 Devenir du cuivre dans les sols

2.3.1 Distribution physico-chimique des métaux dans les sols

Dans les sols, les métaux peuvent se retrouver sous différentes fractions (MacLean, 1992) :

- dissout dans la solution du sol (en tant qu'ion libre ou complexe soluble);
- occupant des sites d'échange ionique sur les constituants inorganiques du sol;
- spécifiquement adsorbé sur les constituants inorganiques du sol;
- associé (complexé ou adsorbé) à la matière organique insoluble;
- précipité sous forme de composés;
- présent dans la structure des minéraux en place.

Cette distribution des métaux est influencée par plusieurs propriétés du sol. D'abord, la *capacité d'échange cationique* (CEC), qui dépend des sites électrostatiques retrouvés à la surface de l'argile et surtout de la matière organique, influence l'adsorption physique du métal. D'autres cations peuvent entrer en compétition avec le métal pour l'accès à ces sites. Effectivement, la prévalence du lien ionique dépend du ratio charge/rayon. Ainsi, les métaux sont adsorbés selon la préférence suivante : Ni>Mg>Cu>Co>Zn>Cd>Sr>Pb (Adriano, 2001).

Puis, les *oxydes de Fe, d'Al et de Mn* peuvent également adsorber le métal. La présence de ces oxydes est influencée, entre autres, par le potentiel d'oxydoréduction (ORP). La force du lien divalent avec l'oxygène de l'adsorption spécifique dépend de l'électronégativité des éléments: Cu>Ni>Co>Pb>Cd>Zn>Mg>Sr (Adriano, 2001).

La nature du métal peut effectivement influencer sa propre distribution dans les sols. Une étude réalisée sur plusieurs sols contaminés au Cd, Zn, Pb et Cu autour de la mine et de la fonderie de Kamioka et de la fonderie Annake montre que le cuivre et le plomb se retrouvent surtout liés à la matière organique solide (0,1M K₄P₂O₇), i.e. 30-40% en moyenne, le cadmium est à 50% sous forme échangeable (0,05M CaCl₂) et la plus grande partie du zinc (30%) est lié aux oxydes (0,1M acide oxalate) (Asami, 1995).

Le contenu en *matière organique* et sa composition en *carbone organique dissout* (DOC) peut influencer le fractionnement des métaux en formant des complexes chélates (solubles ou non). En effet, les composés humiques contiennent des groupes fonctionnels qui peuvent former des complexes par coordination avec les ions métalliques (carboxyles, phénols, alcools et carbonyles).

Enfin, le *pH* est une variable majeure dans la détermination du fractionnement des métaux puisqu'il influence plusieurs processus : précipitation/solubilisation des composés inorganiques, modification de la CEC du sol, solubilisation de la matière organique, etc.

Une interaction entre les composantes du sol est aussi possible. Une expérience réalisée sur le chrome, avec de la kaolinite, de l'hydroxyde de fer, de la matière organique naturelle, du carbonate de calcium et du dioxyde de manganèse a démontré que ces composants du sol n'ont pas les mêmes propriétés adsorbantes seuls ou en combinaison les uns avec les autres (Kallio *et al.*, 2001).

Finalement, le *temps* peut également changer le fractionnement des métaux dans les sols. En effet, plusieurs réactions chimiques peuvent influencer l'évolution de la contamination dans un sol réel soumis aux intempéries, notamment des réactions d'oxydoréduction faisant intervenir le fer, le manganèse, le soufre et la matière organique (Wang *et al.*, 2002) et des réactions de précipitation/solubilisation influencées, entre autres, par les changements de pH.

2.3.2 Détermination de la disponibilité chimique

Les différentes fractions exposées dans la section précédente possèdent une labilité, c'est-à-dire une possibilité de mobilité, ou une disponibilité chimique, différente. Dans le contexte de modélisation du sort des métaux dans l'environnement, il est utile de

caractériser les fractions mobiles et potentiellement mobilisables. Pour ce faire, deux méthodes peuvent être utilisées :

- les extractions chimiques;
- la modélisation thermodynamique de la spéciation chimique.

Les objectifs visés par la caractérisation de la disponibilité chimique sont la modélisation du devenir environnemental et, possiblement, de l'exposition des organismes aux métaux (c.f. section 2.4).

2.3.2.1 Extractions chimiques

Des interactions constantes ont lieu entre la solution du sol et la phase solide. Afin d'évaluer les fractions de la quantité totale de métal liées aux différentes composantes solides du sol qui peuvent être plus ou moins labiles, des agents extracteurs sont utilisés. Des définitions fonctionnelles sont données à ces agents chimiques selon leurs différentes propriétés et les processus naturels qu'ils simulent. De l'eau, des solutions salines neutres, des agents chélateurs, ainsi que des composés oxydants ou réducteurs peuvent être utilisés pour extraire les métaux des sols. Ces extractions peuvent être effectuées en parallèle ou de façon séquentielle.

Solutions salines neutres

Des solutions salines neutres sont souvent utilisées afin de caractériser la fraction dissoute et échangeable du métal. Cette fraction est considérée labile, puisqu'un simple échange cationique permet de la libérer. Les solutions salines rencontrées dans la littérature afin de déterminer la fraction dissoute et échangeable sont : 1M NH_4NO_3 , 0,01M/0,1 M CaCl_2 ou $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 1M MgCl_2 ou $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, 0,1 M NaNO_3 ou KNO_3 , etc. Des comparaisons réalisées sur ces différents composés montrent que le 0,1M

NaNO_3 et le 0,01M CaCl_2 extraient une quantité similaire de cuivre (Sahuquillo *et al.*, 2003).

Agents chélateurs

Des agents chélateurs sont aussi utilisés afin de caractériser la fraction de métal dissout et échangeable de même que celle complexée à la matière organique : DTPA, EDTA, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, etc. L'utilisation de ces agents tente de simuler les exudats libérés par les racines des plantes qui sont des acides organiques à faible poids moléculaire et aux propriétés chélatantes. L'utilisation plus particulière du DTPA prend ses origines dans le domaine de l'agriculture. Cet agent est utilisé afin de vérifier l'accès des plantes aux micro-nutriments (McLaughlin, 2000). La procédure originale a été développée par Lindsay et Norvell en 1978. L'utilisation du DTPA pour quantifier la disponibilité des micro-nutriments chez les plantes a déjà été démontrée (Cajuste *et al.*, 2000). L'utilisation de cet agent pour vérifier la disponibilité des métaux dans les sols contaminés a été tentée à quelques reprises, mais il semble que de faibles corrélations entre l'extraction et les réponses des organismes aient été trouvées (Esnaola *et al.*, 2000; Jarvis et Whitehead, 1981; Merry *et al.*, 1986) à l'exception de Miles et Parker (1979) et Plenderleith et Bell (1990) qui ont obtenu de fortes corrélations, mais pour un seul type de sol.

Extractions séquentielles

Des procédures d'extractions séquentielles sont également largement utilisées afin de caractériser les fractions du métal associées à la phase solide du sol. Les méthodes de Tessier *et al.* (1979) et du BCR (Bureau Communautaire de Référence) (Ure *et al.*, 1993) sont les plus appliquées. Elles consistent en une séquence de manipulations chimiques au pouvoir d'extraction de plus en plus fort.

La méthode de Tessier *et al.* consiste en 5 étapes :

- F1 : soluble et échangeable (1M MgCl_2 , pH=7)
- F2 : liée aux carbonates ou spécifiquement adsorbés (1M NaOAc/HOAc , pH=5)
- F3 : liée aux oxydes réductibles d'Al, de Fe et de Mn (0,04 M $\text{NH}_2\text{OH}.\text{HCl}$ / HOAc 25%)
- F4 : liée à la matière oxydable (0,02M HNO_3 / 30% H_2O_2 / 3.2 M NH_4OAc)
- F5: résiduelle (HNO_3 / HClO_4 / HF)

D'autres variantes sont également utilisées dans la littérature, notamment le $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ est utilisé pour extraire les complexes organométalliques (Krishnamurti et Naidu, 2002).

La méthode européenne du BCR se déroule en trois étapes (Sahuquillo, 2003) :

- F1: acidification (0,11 M CH_3COOH)
- F2: réduction (0,1M $\text{NH}_2\text{OH}.\text{HCl}$)
- F3 : oxydation (8,8 M H_2O_2 / 1M CH_3CONH_4)

En résumé, aucun agent extracteur n'est reconnu universellement (Adriano, 2001). Cependant, les solutions salines neutres ont été recommandées comme étant les meilleurs agents extracteurs pour déterminer la biodisponibilité des métaux (Lebourg *et al.*, 1996) (c.f. section 2.4).

2.3.2.3 Spéciation et modélisation thermodynamique

La spéciation est l'équilibre chimique des différentes espèces métalliques : complexes inorganiques en solution, précipité, complexes organiques solubles. Différents modèles d'équilibre thermodynamique peuvent simuler la spéciation des métaux dans la solution du sol tels : WHAM, VMINTEQ, PHREEQC, GEOCHEM, CHESS, etc.

Pour réaliser une simulation dans un tel modèle, l'utilisateur doit connaître les concentrations des principaux anions et cations présents dans la solution, notamment l'activité de l'ion libre, puis le pH, la concentration en carbone dissout, et si disponible, le potentiel redox et l'alcalinité (USEPA, 2000).

Ces modèles peuvent être fort utiles pour déterminer la spéciation des métaux, mais il faut garder en tête les critiques adressées à ceux-ci. En effet, les modèles sont faits pour les milieux saturés en équilibre. La cinétique est absente, alors que les sols sont rarement à l'équilibre (Strawn et Sparks, 1999). Les cinétiques des réactions d'oxydoréduction et d'adsorption peuvent effectivement influencer la spéciation transitoire réelle des métaux. D'autre part, la modélisation de la formation de complexes avec la matière organique naturelle est difficile étant donné l'information limitée sur les formes de ligands organiques existants, et, par conséquent, sur les constantes de formation des complexes organométalliques (Adriano, 2001).

2.3.3 Détermination du K_d

De façon générale, la distribution des métaux entre la phase solide du sol et la phase mobile (solution du sol) constitue un paramètre important dans la modélisation du transport des métaux dans les sols. À cet effet, des tests d'adsorption, desquels un coefficient de distribution ou de partition (K_d ou K_p) est calculé, sont couramment réalisés, soit par une extraction avec de l'eau distillée ou déionisée ou encore avec une solution saline à la force ionique très faible qui simule la solution de sol, telle qu'une solution de CaCl_2 0,001 M. Le coefficient de partition est donc un indicateur de la mobilité du métal dans un sol (Sauvé *et al.*, 2000). Plus le K_d est élevé, plus le métal est adsorbé sur les particules de sol, alors qu'un K_d plus faible signifie que le métal se retrouve davantage dans l'eau des pores.

Plusieurs approches pour déterminer le K_d sont retrouvées dans la littérature. Tout d'abord un coefficient de partition constant pour chacun des métaux a souvent été utilisé pour la modélisation de concentration en métaux dans la solution du sol (Sauvé *et al.*, 2000) :

$$K_d = \frac{[M]_{TOT}}{[M]_{dissout}}$$

où K_d : coefficient de distribution (L/kg)

$[M]_{TOT}$: concentration de métal dans le sol (mg/kg)

$[M]_{dissout}$: concentration de métal dans la phase aqueuse (mg/L)

Puis, l'isotherme de Freundlich, approche similaire à la valeur constante de K_d , s'en différencie par la considération de la saturation des sites d'adsorption :

$$\text{Métal absorbé} = K_d (\text{métal dissout})^n$$

Buchter *et al.* (1989) ont mesuré les paramètres de Freundlich pour 15 métaux et 11 sols différents. Il a remarqué que les coefficients de partition étaient influencés de façon importante par les caractéristiques des sols, notamment par le pH (le facteur le plus important), la CEC et les matériaux amorphes comme les oxydes de fer et d'aluminium.

Les paramètres de l'équation de Freundlich (K_d , n) et l'effet des caractéristiques du sol ont aussi été étudiés par Yuan et Lavkulich (1997). Pour le cuivre, l'effet d'une diminution de 11% du contenu en matière organique diminue le K_d de 97%, alors que l'abaissement du pH d'une unité entre 6,8-5,8 le diminue de 32%. L'effet de l'abaissement du pH d'une unité de 4,7 à 3,7 a un effet plus marqué sur le K_d (-43%).

Lors de la mesure du K_d , le ratio sol: solution utilisé a aussi une importance considérable sur le résultat obtenu. Un ratio sol:solution plus grand (ex.: 1:50) entraîne la mesure d'un plus grand K_d , alors qu'un ratio plus petit (ex.: 1:2) donne un K_d plus petit pour les métaux étudiés: Ni, Cu, Zn (Yin *et al.*, 2002). Dans cette même étude, les auteurs montrent que l'adsorption du cuivre est fortement liée au coefficient d'adsorption de la matière organique.

Effectivement, dans le cas du cuivre, on note une diminution de l'adsorption suivant une augmentation du carbone organique dissout (DOC) (Bolan *et al.*, 2003). Le cuivre a une forte tendance à se complexer à la matière organique en solution (Sposito *et al.*, 1982; Sauvé *et al.*, 1997). McBride (2001) a noté une complexation de 99,5 % du cuivre en solution à la matière organique dans un loam à 5,3% MO. Krishnamurti et Naidu (2002) ont aussi observé une prédominance des complexes Cu-DOM dans les sols étudiés (97% en moyenne).

Le pH a également une influence sur l'adsorption du cuivre et ce, de deux façons différentes. D'abord, la matière organique devient plus soluble en augmentant le pH (Adriano, 2001). En ce sens, les complexes formés avec les acides fulviques sont dominants à pH acide, alors que les complexes formés avec les acides humiques deviennent plus présents lorsqu'on augmente le pH (Temminghoff *et al.*, 1994). Ge *et al.* (2002) ont effectivement constaté qu'une augmentation du pH entraîne une diminution de la concentration en Cu^{2+} et une augmentation en complexes organiques dans la solution : 70-99% du cuivre en solution (par modélisation). Temminghoff *et al.* (1997) ont aussi observé une influence du pH sur la complexation du cuivre avec des acides humiques : à pH 3,9, 30% du cuivre en solution est lié au DOC, alors qu'à pH 6,6, 99% du Cu est lié au DOC.

D'autre part, le pH a tendance à augmenter l'adsorption des métaux à la phase solide notamment à cause de la diminution de la solubilité de plusieurs composés (ex.:

$\text{Cu}(\text{OH}_2)$) et à cause de l'augmentation de la charge négative des surfaces à échange cationique. Par ailleurs, quelques études ont trouvé peu de relation entre le pH du sol et la concentration dissoute de cuivre (Jeffery et Uren, 1983; Sauvé *et al.*, 1997)

Finalement, quelques études ont tenté d'établir des corrélations entre les propriétés des sols et les coefficients d'adsorption retrouvés dans la littérature ou mesurés sur différents sols. Le tableau 2.3 présente un résumé des résultats de ces études pour le cuivre (Cu).

On remarque que, dans tous les cas, le pH et la teneur en matière organique (solide ou dissoute) sont des paramètres qui influencent significativement l'adsorption du cuivre. Les trois études néerlandaises (Janssen *et al.*, 1997a; de Groot *et al.*, 1998; Otte *et al.*, 1999) sont basées sur des expérimentations réalisées dans les mêmes conditions, selon les mêmes méthodologies. La méta-analyse de Sauvé *et al.* (2000) est basée sur de nombreuses valeurs expérimentales provenant de différentes sources, d'où la grande variabilité des valeurs.

Tableau 2.3: Corrélations disponibles dans la littérature pour l'adsorption du cuivre sur la phase solide du sol

Source	Nb	Étendue	Moy./ médiane	Corrélations
USEPA, 1999	20	1,6 – 3981	316/ 501	
Janssen <i>et al.</i> , 1997	20	25 - 4318	894/ 529	$\log K_p = 0,15\text{pH} + 0,45 \log \text{Fe}_{\text{ox}} - 0,71\text{DOC} + 1,33$ ($r^2=0,76$)
De Groot <i>et al.</i> , 1998	23	7 - 7893	483	$\log K_p = -0,20 + 0,28\text{pH}(\text{CaCl}_2) + 0,89\text{Al}_{\text{ox}} - 0,56\log\text{DOC}$ ($r^2=0,742$)
Otte <i>et al.</i> , 1999	23	7 - 7893	483	(1) Isotherme avec la variance expliquée la plus grande ($r^2=0,904$): $[\text{Cu}]_{\text{adsorbé}} = 9.451 - 0.815\%\text{OC} + 0.331\%\text{argile} + 27.240 * \%\text{OC}^{1.211} * \%\text{argile}^{0.882} * [\text{H}^+]^{-0.066} [\text{M}_{\text{CaCl}_2}]^{1.259}$ (2) Isotherme la plus simple ($r^2=0,412$): $[\text{Cu}]_{\text{adsorbé}} = -16,31 + 11,385\%\text{OC} * [\text{H}^+]^{-0,146}$
Sauvé <i>et al.</i> , 2000	452	6,8 – 82 850	4799/ 2120	(1) $\log \text{Cu}_{\text{dissout}} = -0,21\text{pH} + 0,93\log [\text{Cu}]_{\text{tot}} - 0,21\log \text{OC} + 1,37$ ($r^2=0,611$) (2) $\log K_d = 0,21\text{pH} + 0,51 \log \text{OC} + 1,75$ ($r^2=0,419$)
Impellitteri <i>et al.</i> , 2003	41			$\log K_d = 0,3793 \text{pH} + 0,1476 \%\text{OM} - 1,0417$ ($r^2=0,72$)

2.3.4 Cinétique de la disponibilité chimique

Le temps a une influence sur le fractionnement des métaux dans les sols. Effectivement, l'adsorption des métaux a lieu en deux temps : une phase initiale rapide et réversible, suivie d'une période lente. La séparation entre les deux phases est arbitraire, elle a lieu quelques heures ou quelques jours après la contamination. Plusieurs études sur l'adsorption des métaux sur les sols sont basées sur des périodes de 24 h ou moins, car l'équilibre est supposé atteint (Griffin *et al.*, 1986). Cependant, il est connu que la séparation entre les fractions de métaux dans le sol et dans la solution est dépendante de processus lents. Strawn et Sparks, (1999), Sheppard et Stephenson (1997) et Han *et al.* (2001) ont noté que l'adsorption du cuivre sur des sols sablonneux, organiques ou argileux augmentait au fil des semaines. Wada et Wada (1999) ont noté la diminution de la fraction dissoute et échangeable de Cu, Zn et Pb avec le temps. Ma et al. (2002) ont observé une adsorption quasi-instantanée du cuivre sur la matière organique (moins d'une heure), tandis que les complexes qu'ils forment ensemble prennent jusqu'à 6 heures à se former.

Par ailleurs, de nombreuses expériences ont montré l'hystérésis des processus d'adsorption/désorption, c'est-à-dire un phénomène par lequel une partie de la fraction du métal adsorbé n'est pas récupérée (McLaren *et al.*, 1983, Brümmer *et al.*, 1988). De plus, plus le temps de vieillissement est long, plus le métal est fortement lié à la matrice (Ainsworth *et al.*, 1994). Cependant, ces différences observées sur les quantités récupérées peuvent également être dues à la différence entre les temps de demi-vie des réactions d'adsorption et de désorption (Strawn et Sparks, 1999).

Après avoir expérimenté des procédures de vieillissement dans des sols saturés et non saturés, Han *et al.* (2001) concluent que le régime d'humidité a une influence sur la redistribution des métaux dans le temps. Ils ont alors développé une procédure d'alternance mouillage – séchage. Suivant ces changements de conditions redox, ils

ont noté une diminution de la fraction dissoute et échangeable du cuivre, tandis qu'une augmentation de la fraction organique a été observée dans le sable et une augmentation de la fraction réductible dans le loam.

2.4 Exposition des organismes terrestres au cuivre

2.4.1 Concept de biodisponibilité

La biodisponibilité est définie comme le potentiel des organismes vivants à absorber les composés chimiques via la nourriture ou directement par l'environnement abiotique à un niveau auquel ces composés peuvent être impliqués dans le métabolisme de ces organismes (Adriano, 2001). En d'autres mots, la fraction biodisponible d'un métal est la fraction absorbable du métal qui peut ainsi générer un potentiel de toxicité ou une concentration nécessaire à la survie des organismes (Sauvé, 2003).

La fraction biodisponible d'un contaminant dans un sol influence donc l'accumulation de celui-ci dans les organismes vivants. Ainsi, la concentration interne dans les organismes a été utilisée fréquemment pour évaluer l'influence des paramètres du sol sur la disponibilité des métaux (Ginocchio *et al.*, 2002; Janssen *et al.*, 1997b; Peijnenburg *et al.*, 1999). Cependant, il est fréquemment rapporté que le facteur de bioconcentration (ratio de la concentration du métal dans l'organisme sur la concentration dans le sol) tend à décroître parallèlement à une augmentation de la concentration totale et de la concentration disponible dans le sol (Salim *et al.*, 1995). Particulièrement pour les métaux essentiels, l'approche de la concentration interne est discutable étant donné le fait que les concentrations internes de zinc et de cuivre sont souvent régulées (Peijnenburg *et al.*, 2000; Svendsen et Weeks, 1997). De plus, les concentrations internes des organismes ne sont pas nécessairement corrélés avec les effets toxiques (Lock *et al.*, 2000; Janssen *et al.*, 1997b, Rhoads *et al.*, 1989).

2.4.2 Identification de la fraction biodisponible

Il est largement reconnu que la concentration du sol en métal total est un mauvais indicateur de la concentration présente dans les tissus des organismes et que les caractéristiques des sols influencent la biodisponibilité (Lexmond, 1980; Sauvé *et al.*, 1996; Sauvé *et al.*, 1997; Peijnenburg *et al.*, 2000). Plusieurs auteurs ont tenté d'identifier quelle fraction du métal total présent dans les différents types de sols était disponible pour les organismes terrestres. Il existe plusieurs hypothèses, mais la majorité des auteurs s'entendent pour dire que la fraction biodisponible passe par la solution du sol (Naidu *et al.*, 2001; Ge *et al.*, 2002; Adriano, 2001). Cette hypothèse est toutefois mise en doute dans les cas des invertébrés (Lock et Janssen, 2001). En effet, selon ces auteurs, la preuve ne serait que circonstancielle.

Plusieurs études ont démontré que l'ion libre présent dans la solution du sol était le meilleur indicateur de la biodisponibilité, c'est-à-dire qu'il était mieux relié à l'accumulation du métal dans l'organisme vivant que le métal total ou la fraction dissoute (Sauvé *et al.*, 1996; Bolan *et al.*, 2003; Sauvé *et al.*, 1998; Ge *et al.*, 2002)

Par ailleurs, il existe d'autres études qui démontrent que, pour certains métaux, la fraction complexée en solution peut également être disponible. Certains auteurs ont observé la phytodisponibilité des complexes fulviques de métaux, notamment le Cr (Srivastava *et al.*, 1998), le Pb (Huang *et al.*, 1997), le Cd et le Cu (Krishnamurti et Naidu, 2002). Les complexes organiques du zinc ne semblent toutefois pas phytodisponibles (Krishnamurti et Naidu, 2002; Parker *et al.*, 2001). Certains complexes inorganiques semblent être également des exceptions à la théorie de l'ion libre, tels que le CdCl^- (Campbell, 1995; Smolders et McLaughlin, 1996) et le CdSO_4 (McLaughlin *et al.*, 1998).

Une autre façon d'évaluer la fraction biodisponible d'un métal est d'établir des corrélations entre l'accumulation de celui-ci par des organismes et une fraction de ce métal qui serait récupérée par des extractions simples ou séquentielles (c.f section 2.3.2). Notamment, des extractions au CaCl_2 ont donné de bonnes corrélations avec la biodisponibilité des métaux chez les plantes (Peijnenburg *et al.*, 2000; Sauerbeck et Styperek, 1985; Sanders *et al.*, 1987; Houba *et al.*, 1990; Whitten et Ritchie, 1991; Andrewes *et al.*, 1996), et avec la réponse écotoxique chez les invertébrés (Lock *et al.*, 2003c) et chez les micro-organismes (Kunito *et al.*, 1999; Aoyama et Nagumo, 1996, 1997). D'autres extractions ont également donné de bonnes corrélations avec les réponses toxiques des organismes, notamment le NH_4NO_3 (0,5 M) (Belotti, 1998) et l'eau déionisée (Smit *et al.*, 1998).

2.4.3 Variabilité selon les caractéristiques des sols

Une vaste étude regroupant les résultats de plusieurs laboratoires (Canada, États-Unis, Pays-Bas, Chili et Royaume-Uni) sur la biodisponibilité du cuivre et du zinc dans 41 sols différents a établi un lien entre l'extraction faiblement acide au 0,01M HCl et le cuivre biodisponible définie par l'accumulation de métal dans la laitue, la moutarde ou l'orge (Impelliteri *et al.*, 2003). Dans cette étude, les auteurs estiment à 70% l'influence du pH et de la teneur en matière organique sur le coefficient de partition (K_d) du cuivre et à 80% leur influence sur le cuivre mesuré dans le tissus des plantes.

Le pH et la matière organique ont également été identifiés comme des facteurs significativement influents sur l'accumulation du cuivre par d'autres légumes (Smith, 1994; Ginocchio *et al.*, 2002; Chaignon *et al.*, 2003). Une augmentation de pH contribue à diminuer le contenu en cuivre dans les organismes. D'autre part, l'influence de l'augmentation du contenu en matière organique est dépendante de sa concentration en carbone organique dissout et par conséquent, du pH. En effet, Chaignon *et al.* (2003) ont observé une diminution de la concentration de cuivre dans

les racines des tomates suite à une augmentation de la teneur en carbone organique total dans des sols faiblement acides, tandis que dans les sols alcalins, ils ont constaté une augmentation de la concentration du cuivre dans les tissus. Les oxydes de fer et d'aluminium sont aussi des paramètres qui influencent la biodisponibilité du cuivre dans les sols (Chaignon *et al.*, 2003; Janssen *et al.*, 1997b).

2.4.4 Variabilité selon les organismes

Dans le contexte d'une évaluation du potentiel écotoxique terrestre en ACV, l'ensemble des espèces de l'écosystème terrestre doit être représenté par le facteur de caractérisation. Pour ce faire, il est utile de connaître les voies d'exposition et les comportements d'accumulation des métaux des différents phyla retrouvés dans cet écosystème.

2.4.4.1 Les plantes terrestres

L'exposition des plantes aux métaux du sol se fait par contact direct entre les racines et la solution du sol dans la zone entourant celles-ci. Les exudats chélatants (acides organiques) généralement libérés par les plantes peuvent contribuer à une plus grande accumulation de métaux dans l'organisme, mais également au phénomène inverse. Effectivement, il a été observé que des agents chélateurs sont libérés quand la plante est en situation de déficience de métaux essentiels afin de solubiliser les métaux du sol. Parallèlement, un des moyens de défense de certaines plantes est la production de phytochélatine dans le but d'expulser les métaux toxiques (Adriano, 2001). L'accumulation du métal par la plante se fait plutôt dans les racines que dans le feuillage ou la tige. Il existe, par ailleurs, trois différents types d'accumulateurs chez les plantes. D'abord, il y a les plantes à faible prélèvement, comme le gazon. Ce type de plante concentre moins de métal plus la concentration dans le sol est grande. Puis, il

Il y a les indicateurs qui accumulent le métal proportionnellement à la concentration dans le sol, ce qui inclut les céréales et les grains (Adriano, 2001). Finalement, les accumulateurs (laitue, moutarde, épinard, tabac, etc.) accumulent davantage de métal plus la concentration dans le sol augmente.

2.4.4.2 Les décomposeurs

Les décomposeurs sont exposés à des concentrations de métaux directement liées à ce qui se trouve dans les sols par le contact cutané ou par le tube digestif. Ils regroupent, entre autres, les vers (*Aporrectodea caliginosa*, *Eisenia fetida*, *Lumbricus terrestris*, etc.), les isopodes (*Porcellio scaber*) et les collemboles (*Folsomia candida*, *Folsomia fimetaria*). Les vers de terre constituent la composante prédominante de la faune du sol avec une densité de 10-200g/m² (Kula et Larink, 1998).

Les invertébrés du sol tels qu'*E.andrei*, *F.candida* et *F.fimetaria* peuvent réguler leur concentration de cuivre indépendamment de la concentration du sol (Saxe *et al.*, 2001; Svendsen *et al.*, 1997; Pedersen *et al.*, 2000). De plus, la concentration interne de cuivre atteint un équilibre rapidement : 7 jours dans *E. fetida* (Spurgeon *et al.*, 1994), 2 à 3 semaines dans *L. terrestris* (Kenette *et al.*, 2002), 3 jours dans *E.andrei* (Peijnenburg *et al.*, 1999).

2.5 Effets écotoxicologiques du cuivre

2.5.1 Influence du type de sol

Comme la biodisponibilité des organismes terrestres change selon les différentes propriétés des sols, il est facile de concevoir que la réponse écotoxique puisse varier également. Par exemple, il a été observé qu'une augmentation de pH contribue à diminuer significativement l'effet toxique du cuivre (Ma *et al.*, 1984). Le contenu en

matière organique est aussi un paramètre important dans la variabilité des réponses toxiques associées au cuivre (Belotti, 1998). L'étude de Patterson *et al.* (1983) montre une diminution de l'effet du cuivre sur la croissance des racines du pin rouge suivant le contenu en matière organique : sur un sol organique (tourbe), la EC_{50} est de 7080 mg/kg, alors que sur un sol minéral, la croissance des racines est diminuée de 50% à 400 mg/kg. Le même genre d'observation a été fait sur *E.fetida* croissant sur un sol LUFA 2.2⁴ et un médium OCDE⁵, la LC_{50} est passée de 453 à 1002 mg/kg (Kula et Larink, 1998). Des LC_{50} testées sur 3 sols différents (Albany⁶, Cecil⁷ ou ASTM⁸) avec *Caenorhabditis elegans* oscillent entre 300 et 1400 mg/kg. (Boyd et Williams, 2003). L'augmentation du contenu en argile et en matière organique a contribué à diminuer les LC_{50} dans ces deux études. Van Gestel *et al.* (1995) ont identifié la CEC de même que le pH, le contenu en argile et en matière organique comme étant les facteurs principaux influençant la toxicité des métaux dans les sols.

Une série d'études par Lock et Janssen (2000, 2001a, 2001b, 2001c) a mené à des relations mathématiques entre la réponse écotoxicologique des invertébrés terrestres pour quelques métaux et les caractéristiques des sols testés. Des régressions mathématiques ont été obtenues via des expérimentations conçues selon des designs statistiques de même que via des analyses de données de la littérature. Des analyses préliminaires ont permis d'identifier la matière organique et le pH comme les deux variables les plus importantes. Par ailleurs, lors de la validation des équations, la teneur en matière organique a dû être remplacée par la CEC pour tenir compte de l'influence des autres paramètres sur la CEC dans des sols naturels.

⁴ pH=5,5; 2,3 %carbone organique; 5,1% argile

⁵ pH=5,5; 10% matière organique; 20% argile

⁶ pH=6,1; 1,4%OM; 2%argile; CEC=2,4 mEq/100g

⁷ pH=5,7; 5,1%OM;10%argile; CEC=7,2 mEq/100g

⁸ pH=7,8; 5,1%OM; 8%argile; CEC=28,4 mEq/100g

Tableau 2.4: Résultats d'une série d'études reliant l'écotoxicité et les types de sol

Métal	Espèce	Sources des données	Test écotox	Régression	Validation
Zn	<i>E. Albidus</i>	Expérimental Central Composite Design (CCD)	Mortalité 14 jours	$LC_{50} = -30,5 \text{ CEC} - 17,1 \text{ pH} + 11,6 \text{ CEC} * \text{pH} + 56,1$	Sur 3 sols: OCDE, limon, sable
Cd	<i>E. Albidus</i>	Expérimental (CCD)	Idem	$LC_{50} = -37,2 \text{ CEC} - 42,4 \text{ pH} + 11 \text{ CEC} * \text{pH} + 213$	idem
Cu	<i>E. Albidus</i>	Expérimental (CCD)	idem	$LC_{50} = -12,8 \text{ CEC} - 0,85 \text{ pH} + 8,46 \text{ CEC} * \text{pH} + 117$	idem
Pb	<i>E. Albidus</i>	Expérimental (CCD)	idem	$LC_{50} = -5,73 \text{ CEC} - 107 \text{ pH} + 64,1 \text{ pH} * \text{CEC} - 1040$	idem
Zn	<i>F. candida</i>	Expérimental (CCD)	Repro- duction 28 jours	$EC_{50} = 13,0 \text{ pH} - 31,3 \text{ CEC} + 15,5 \text{ pH} * \text{CEC} - 113$	19 sols terrain
Zn	<i>F. candida</i>	Littérature	Mortalité	$LC_{50} = 0,46 \text{ pH} + 0,52 \log (\text{CEC}) + k$ ($r^2=0,87$)	
Zn	<i>E. fetida</i> / <i>E. andrei</i>	Littérature	Mortalité Repro- duction	$LC_{50} = 0,58 \text{ pH} + 0,48 \log (\text{CEC}) + k$ ($r^2=0,70$) $EC_{50} = 0,44 \text{ pH} + 0,61 \log (\text{CEC}) + k$ ($r^2=0,69$)	
Cd	<i>F. candida</i>	Littérature	Repro- duction	Aucune possible	
Cd	<i>E. fetida</i> / <i>E. andrei</i>	Littérature	idem	Aucune possible	

2.5.2 Influence du temps

De multiples observations sur le terrain ont tenté de démontrer que les sols anciennement contaminés sont moins toxiques que les sols fraîchement contaminés. (Scott-Forsmand, 2000a; 2000b) ont noté qu'un sol contaminé 70 ans auparavant était moins toxique qu'un sol fraîchement contaminé à l'aide de chlorure de cuivre (CuCl_2). Avec *F.fimetaria*, aucune toxicité n'a été observée à une concentration de 2911 mg Cu/kg sur le terrain, alors que la EC_{10} de la reproduction se situe à 340 mg Cu/kg dans un sol contaminé en laboratoire. Dans ces études, il est difficile d'omettre la présence de l'anion Cl^- utilisé pour contaminer le sol en laboratoire. Cet anion en plus d'être (potentiellement) toxique, rend surtout ce sel de cuivre très soluble.

Lock et Janssen (2003a) ont également trouvé une concentration de cuivre extraite au CaCl_2 (0,01M), de même qu'une réponse toxique significativement plus élevée dans des sols fraîchement contaminés par rapport aux sols contaminés sur le terrain qui ont des propriétés similaires. Par ailleurs, un effet de pH vient biaiser les conclusions, car le pH diminue immédiatement après la contamination en laboratoire.

Pedersen *et al.* (2000) ont observé une diminution de la EC_{50} du cuivre sur *F. convolvulus* avec le temps dans un sol vieilli à 50% de sa capacité de rétention pendant 12 semaines. Cependant, les intervalles de confiance à 95% se recoupent. L'observation n'est pas statistiquement significative.

Enfin, la réponse d'*E. andrei* testée sur des sols contaminés sur le terrain est très différente de celle mesurée dans des sols contaminés artificiellement lorsqu'elle est exprimée en concentration totale de métal. Par ailleurs, quand la réponse est exprimée

en métal extrait au CaCl_2 ou à l'eau, les courbes de réponse deviennent similaires (Peijnenburg *et al.*, 1997).

Afin de comparer les résultats en laboratoire avec les effets observés sur le terrain, Smit *et al.* (1998) recommandent d'égoutter le sol sur un filtre avant de le tester. En effet, la différence entre les réponses écotoxicologiques des sols âgés et filtrés était moins grande que celle retrouvée entre les sols âgés et fraîchement contaminés.

Finalement, deux études de (Gharmali *et al.*, 2001; 2002) ont montré une augmentation de la fraction dissoute et échangeable du cuivre et du cadmium ainsi qu'une diminution de la fraction oxydable suivant la durée de remaniement du sol par *L. terrestris*. Par ailleurs, ces études ont également démontré une augmentation de la formation de complexes organiques de cuivre avec l'action du ver de terre, ce qui confère au métal une stabilité en solution, alors que le Cd, possédant peu d'affinités avec les ligands organiques solubles, devient plus labile et potentiellement disponible pour les organismes terrestres.

2.6 Conclusion

Cette revue de littérature a permis de mettre en évidence la problématique de l'évaluation de l'écotoxicité terrestre en ACV sachant que les métaux possèdent une certaine mobilité et biodisponibilité qui dépendent des caractéristiques des sols. Des relations entre les coefficients de partition (K_d) et les propriétés des sols ont été trouvées dans la littérature afin d'estimer le sort des métaux dans les modèles multi compartiments. Par ailleurs, l'exposition des organismes aux métaux via une fraction biodisponible chimiquement définie ne fait pas de consensus. De plus, l'accumulation de métaux dans les tissus n'a pas nécessairement un lien direct avec la réponse toxique et est variable selon les organismes.

L'intégration de la variabilité de la réponse toxique directement via les propriétés de sols est donc une option à la définition d'une « exposition ». La littérature à ce sujet se limite à des régressions mathématiques sur une seule espèce, dans le cas du cuivre.

Finalement, l'influence du temps sur la mobilité et l'écotoxicité est un paramètre important en ACV puisque le potentiel d'impact est intégré sur un temps infini et que les métaux ne se dégradent pas. Selon la littérature, le temps contribue à diminuer la mobilité et la toxicité associées aux métaux. Par ailleurs, des études sur la cinétique à moyen ou long terme de ces deux paramètres dans des conditions naturelles sont peu nombreuses.

CHAPITRE 3 – APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE

L'objectif principal de ce projet de maîtrise est d'évaluer l'influence des propriétés des sols et du temps sur le potentiel écotoxique terrestre du cuivre en ACV. Pour ce faire, une approche méthodologique simple en trois étapes est suivie (figure 3.1). Une description de la méthodologie particulière suivie à chacune des étapes est détaillée à l'intérieur de chacun des chapitres.

3.1 Analyse statistique des données écotoxicologiques de la littérature

L'objectif visé par la première étape de la démarche (chapitre 4) est d'établir, à partir de données écotoxicologiques retrouvées dans la littérature, des relations possibles entre les propriétés des sols et la réponse écotoxique. Il est possible grâce à cette analyse statistique des tests réalisés sur des invertébrés et des plantes dans des sols contaminés au cuivre, de justifier des manipulations expérimentales pour établir de façon plus systématique des tendances observées dans le bassin de données.

3.2 Influence du temps et des propriétés des sols sur l'écotoxicité du cuivre

Les manipulations expérimentales (chapitre 5) permettent d'établir des relations mathématiques entre les propriétés des sols et le fractionnement du cuivre, de même qu'entre les types de sol contaminés au cuivre et la réponse toxique de deux espèces différentes. En effet, des extractions chimiques de même que des bioessais réalisés sur *Hordeum vulgare* (orge) et *Eisenia fetida* (ver de compost) sont réalisés sur une gamme de 10 sols différents contaminés par le cuivre. Ces sols artificiels sont constitués selon un design statistique :

pH= 5.5 et 7.5

1% < matière organique < 30%

5% < argile < 35%

L'influence du temps sur la mobilité et la réponse toxique du cuivre est également étudiée.

3.3 Intégration des résultats dans le contexte de l'ÉICV

La dernière étape de cette étude (chapitre 6) consiste à vérifier l'influence de la différenciation spatiale (propriétés de sol) et du facteur de vieillissement sur le calcul du potentiel écotoxique du cuivre en ACV. Pour ce faire, l'étude de deux sols différents recevant une émission de cuivre via le compartiment « air » est réalisée à l'aide de la méthode IMPACT 2002+. Les facteurs de sort et d'exposition, ainsi que les facteurs d'effet sont calculés suivant les relations développées dans l'étape précédente pour les sols du Bouclier boréal et des Prairies.

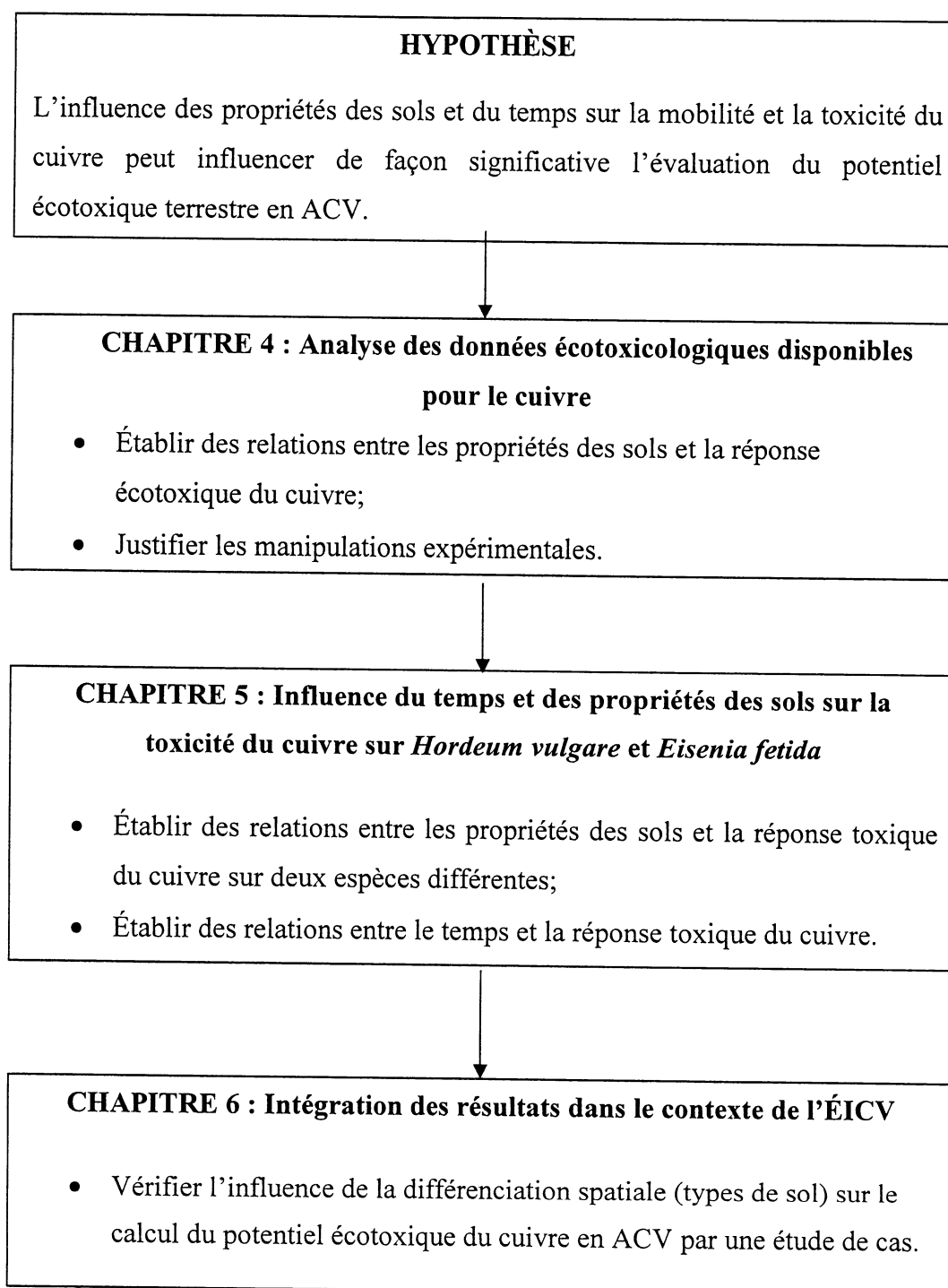


Figure 3.1 : Approche méthodologique

CHAPITRE 4 -ANALYSE STATISTIQUE DES DONNÉES DE LA LITTÉRATURE

Le chapitre 4 a pour but d'évaluer les relations pouvant être établies entre les propriétés des sols et l'effet écotoxicologique en se basant sur les données écotoxicologiques issues de la littérature existante. Ce chapitre permet de mettre en évidence les besoins d'une étude plus approfondie sur le sujet et, ainsi, de justifier les manipulations expérimentales. Pour plus de détails concernant les données utilisées, le lecteur est invité à consulter l'annexe I.

4.1 Introduction

Contrairement aux tests toxicologiques effectués sur l'écosystème aquatique, peu de données écotoxicologiques provenant de tests effectués sur des organismes terrestres sont disponibles dans la littérature. À titre d'exemple, la banque de données écotoxicologiques de l'EPA (*Environmental Protection Agency*) contient 10 fois plus de données aquatiques sur le cuivre que de données terrestres (EPA, 2004). Toutefois, suffisamment de données sont disponibles pour démontrer que certaines caractéristiques des sols ont une influence significative sur le potentiel toxique du cuivre (Lock et Janssen, 2001e).

Dans le contexte de cette étude, il est pertinent d'analyser l'ensemble des données écotoxicologiques actuellement disponibles afin d'évaluer les recherches supplémentaires nécessaires pour répondre à l'objectif de l'étude, soit de relier quantitativement les principales propriétés des sols au potentiel écotoxicologique du cuivre sur l'écosystème terrestre.

4.2 Méthodologie

4.2.1 Provenance des données écotoxicologiques

Les données écotoxicologiques issues de tests réalisés sur des organismes terrestres dont l'exposition avec les contaminants du sol se fait uniquement par voie directe ont été prélevées de la littérature. Pour ce faire, plusieurs bases de données ont été consultées : ECOTOX (US-EPA), ASTDR⁹, ORNL¹⁰, RIVM¹¹ et Manaaki Whenua

⁹ ASTDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US)

¹⁰ ORNL : Oak Ridge National Laboratory (US)

¹¹ RIVM: National Institute of Public Health and the Environment (Pays-Bas)

Landcare Research (NZ). La cueillette de données a été complétée à partir d'articles scientifiques. En tout, 73 EC_{50} regroupant 24 espèces différentes ont été répertoriées. Ce type de données (EC_{50}) a été retenu étant donné la fréquence à laquelle il se retrouve dans la littérature, ainsi que pour la possible intégration dans la méthode AMI (section 2.1.3). Les données prélevées proviennent de publications datant de 1972 à 2001. La liste complète de toutes les données utilisées et leurs sources est présentée en annexe I.

4.2.2 *Choix des variables*

Les paramètres variables contrôlés en laboratoire pouvant avoir une influence sur la réponse toxique sont principalement:

- l'espèce ou le groupe d'espèces (plantes, invertébrés),
- le paramètre biologique mesuré (croissance, reproduction, mortalité),
- la durée du test,
- le pH,
- le contenu en matière organique,
- la texture du sol (argile, limon, sable).

Ces derniers ont donc tous été pris en compte lors de la cueillette de données. Tout d'abord, les espèces rencontrées sont surtout des légumes chez les végétaux, alors que 12 espèces d'invertébrés se retrouvent dans la liste, dont les plus fréquemment rencontrés sont *Eisenia fetida* et *Enchytraeus albidus*. La durée des tests retenus varie généralement entre 7 et 14 jours pour les végétaux (germination et croissance), ainsi que pour les tests de mortalité chez les invertébrés. Les tests chroniques (croissance et reproduction) ont une durée se situant généralement autour de 28 jours.

Les sols étudiés possèdent une gamme étendue de propriétés. Les valeurs de pH varient de 4 à 8,1. Le contenu en matière organique varie de 0 à 43,6%, mais se situe généralement entre 1 et 10%. Le contenu en argile des sols varie de 0,1 à 35% avec une majorité de sols possédant 20% d'argile.

Pour les besoins de l'étude et suivant le nombre de données disponibles, l'influence des caractéristiques des sols (argile, matière organique et pH) sur les réponses écotoxiques a été analysée à l'aide du module *Basic Statistics* de *Statistica* (StatSoft, 1997).

Les plantes et les invertébrés ont été testés simultanément et indépendamment afin d'évaluer la variabilité de l'influence des types de sols sur les réponses toxiques. Puis, le paramètre biologique mesuré et la durée du test ont été qualitativement isolés. Finalement, l'influence du type de sol sur une seule espèce a été analysée afin de fixer le maximum de variables.

4.3 Résultats et discussion

4.3.1 Influence des propriétés des sols à l'échelle de l'écosystème terrestre

Les valeurs de EC_{50} trouvées dans la littérature varient de 65 mg de cuivre par kg de sol sec à 4702 mg Cu/kg. L'analyse statistique sur l'ensemble des données écotoxicologiques répertoriées (invertébrés et végétaux confondus) a révélé que la réponse toxique des organismes est influencée significativement par toutes les propriétés du sol étudiées (tableau 4.1). En effet, une augmentation du pH, du contenu en matière organique et en argile contribue à augmenter la EC_{50} du cuivre et donc diminuer la toxicité du cuivre.

Tableau 4.1 : Corrélation entre les EC₅₀ et propriétés des sols r (p)
– groupe de données : écosystème terrestre

pH	matière organique	argile
0.445*	0.300*	0.400*
(p<0.001)	(p=0.022)	(p=0.002)

Sachant que douze données sur 73 ont été puisées dans la même étude de Lock et Janssen (2001) sur l'influence du pH et de la matière organique sur la létalité de *E. albidus*, une nouvelle analyse excluant ces données a été menée. Celle-ci révèle cette fois une influence significative du contenu en matière organique (p=0,024) et argile (p=0,023). L'influence du pH devient non significative (p=0,087) sans que la gamme de pH se soit rétrécit.

4.3.2 Influence des propriétés des sols sur les végétaux et les invertébrés

Étant donné que les données de EC₅₀ disponibles pour les végétaux sont en moyenne significativement plus faibles que les réponses toxiques des invertébrés (p<0,001), les analyses sur l'influence des types de sol ont donc été menées séparément.

➤ Végétaux

Les données disponibles pour chacun des deux paramètres biologiques mesurés (germination et croissance) ne constituent pas des populations significativement différentes (p>0,05). Les analyses de toutes les données pour les végétaux ont donc été menées conjointement.

Le tableau 4.2 présente la matrice de corrélation reliant les concentrations toxiques aux propriétés du sol. Les EC₅₀ sont corrélées avec le contenu en argile et le pH. L'influence positive du pH sur la EC₅₀ peut être validée par des études antérieures qui

ont démontré une diminution de la réponse toxique au cuivre suivant une augmentation du pH (Salim, *et al.*, 1995; Ma, 1984; Alva *et al.*, 2000). Par ailleurs, le coefficient négatif de l'argile n'est probablement que circonstanciel, car l'argile adsorbe le métal et le rend moins disponible (Adriano, 2001).

Tableau 4.2 : Corrélation entre les EC₅₀ et les propriétés des sols r (p)
– groupe de données : végétaux (n=17)

pH	matière organique	argile
0,993*	-0,591	-0,991*
(p<0,001)	(p=0,162)	(p<0,001)

Le faible nombre de données documentées sur les végétaux (17) et la grande variabilité d'espèces utilisées ont été des facteurs limitant l'analyse statistique.

➤ Invertébrés

Du côté des invertébrés, les données disponibles sur la mortalité sont significativement différentes des données provenant des tests de reproduction et de croissance (p=0,003); la mortalité étant un paramètre moins sensible. Pour ces derniers paramètres biologiques combinés (reproduction + croissance), l'argile et la matière organique ont un effet significatif sur les 13 EC₅₀ trouvés dans la littérature comme le montrent les résultats du tableau 4.3. Plus le contenu en argile et matière organique augmente, plus la EC₅₀ augmente.

Tableau 4.3 : Corrélation entre les EC₅₀ et les propriétés des sols r (p)**– groupe de données : effets chroniques chez les invertébrés (n=13)**

pH	Matière organique	argile
-0.233	0,641*	0,637*
(p=0,466)	(p=0,025)	(p=0,026)

En ce qui a trait aux tests de mortalité, les LC₅₀ sont influencées significativement par le contenu en argile, tel que présenté dans le tableau 4.4. Ce bassin de données compte 43 tests. L'effet de l'argile et de la matière organique contribue à augmenter la concentration à laquelle 50% de la population d'une espèce meurt (LC₅₀). Ces résultats peuvent être corroborés par des études antérieures (Boyd et Williams, 2003; Lock et Janssen, 2001e).

Tableau 4.4: Corrélation entre les EC₅₀ et les propriétés des sols r (p)**– groupe de données : mortalité chez les invertébrés**

pH	Matière organique	argile
0.184	-0,387*	-0,438*
(p=0,251)	(p=0,012)	(p=0,004)

L'analyse excluant les données de Lock et Janssen (2001e) sur *E. albidus* (12 données) ne révèle plus rien de significatif.

4.3.3 Influence des propriétés des sols au niveau du test de mortalité de *Eisenia fetida*

À l'intérieur du bassin de données étudié, il a été observé que certaines espèces sont plus sensibles que d'autres. Par exemple, à partir de tests effectués dans les mêmes conditions (durée et type de sol) et par le même laboratoire, *Lumbricus rubellus* est plus sensible que *Eisenia fetida* (Aquaterra, 2000).

Afin d'évaluer l'influence des propriétés des sols sur la réponse toxique, une analyse statistique a été menée sur une même espèce: *Eisenia fetida*. Les tests de mortalité ont été analysés, car ils étaient le groupe de données le plus important (15 données). Aucune corrélation significative entre les propriétés du sol et la concentration létale n'a pu être trouvée.

4.4 Conclusion

Dans un contexte d'évaluation du potentiel d'écotoxicité terrestre en ACV, au minimum trois espèces différentes provenant de phyla différents doivent être prises en compte afin de représenter l'écosystème terrestre. Dans l'analyse des données de la littérature effectuée dans ce chapitre, l'influence du pH, de la teneur en matière organique et en argile sur les réponses toxiques mesurées pour l'ensemble des 24 espèces étudiées a été constatée. Toutefois, la présence de plusieurs autres variables peut interférer avec les résultats.

D'un autre côté, l'étude effectuée par Lock et Janssen (2001e) sur une espèce (*E.albidus*) démontre de façon concluante l'influence de la capacité d'échange cationique (fortement corrélée à la teneur en matière organique) et du pH sur la mortalité de ce type d'organisme; ces deux paramètres étant les deux seules variables du test. La relation établie pour une espèce ne peut cependant être extrapolée directement à d'autres espèces.

Par ailleurs, un design expérimental constitué de sols contaminés couvrant la composition de la majorité des sols naturels et testé sur au minimum deux espèces différentes, permettrait de vérifier l'influence des caractéristiques de sols sur la réponse toxique de ce qui représenterait davantage l'écosystème terrestre.

CHAPITRE 5 – INFLUENCE DU TEMPS ET DES PROPRIÉTÉS DES SOLS SUR LA TOXICITÉ DU CUIVRE *HORDEUM VULGARE* ET *EISENIA FETIDA*

5.1 Présentation de l'article

Le chapitre 5 reproduit le contenu d'un article soumis à *Environmental Toxicology and Chemistry*. Cette étude menée en laboratoire a permis d'établir des liens entre, d'une part, les propriétés des sols et le temps, et d'autre part, la mobilité du cuivre et la variabilité des réponses toxiques de *Hordeum vulgare* et *Eisenia fetida*.

Après avoir présenté les auteurs et un résumé de l'article, une première partie de l'article présente la problématique associée à la variabilité de la réponse écotoxicologique dans les sols contaminés par le cuivre en regard de la littérature disponible. Puis, suit une section portant sur la méthodologie empruntée pour réaliser la caractérisation physico-chimique des sols, les extractions chimiques du cuivre, les bioessais et l'interprétation statistique des résultats. La partie suivante présente les résultats et la discussion portant notamment sur le fractionnement du cuivre et la réponse écotoxique dans les différents sols testés, ainsi que l'effet du temps sur ces deux paramètres. Finalement, la conclusion résume les principaux faits saillants de l'expérience.

Pour plus de détails sur la méthodologie suivie ainsi que sur les résultats bruts, le lecteur est invité à consulter les annexes 2 à 4.

5.2 Influence of soil properties and ageing on copper toxicological effect on *Eisenia fetida* and *Hordeum vulgare*

Auteurs et co-auteurs : Catherine M. Daoust¹ et Louise Deschênes^{1,2}

¹CIRAIG: Centre Inter-universitaire de Référence sur l'Analyse, l'Interprétation et la Gestion du cycle de vie des produits, procédés et services, Québec, Canada

²CRSNG Chaire industrielle en gestion et réhabilitation des sites, Département de Génie chimique, École Polytechnique de Montréal, Québec, Canada

Keywords: Copper; Toxicity; Partitioning; Soil; Wetting-drying period

5.2.1 Abstract

Influence of soil properties and ageing on Cu partitioning and toxicity was assessed on 10 artificial soils constituted using a statistical design considering pH (5.5 and 7.5), organic matter (1-30% w/w) and clay (5-35% w/w). Soils were spiked with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ using a new procedure including a lixiviation step. Total Cu as well as water, CaCl_2 and DTPA-extracted Cu fractions were determined for each soil. Ecotoxic effect was assessed by growth inhibition of barley (*Hordeum vulgare*) and compost worm mortality (*Eisenia fetida*). Analyses were repeated after an ageing period of the soils (16 weeks under wetting and drying cycles) at pH 7.5. Results indicated that pH was the main parameter influencing Cu partitioning, ahead of organic matter and clay content. CaCl_2 (0.5 M)-extracted Cu fractions showed the best correlation with toxic responses, while total and DTPA-extracted Cu concentrations could not explain toxicity variability. Direct regressions between toxicity and soil properties provided good explanations of variance: $r^2 = 0.48$ (*E. fetida*); $r^2 = 0.75$ (*H. vulgare* shoot); $r^2 = 0.92$ (*H. vulgare* root). Ageing in organic soils revealed a reduction trend in ecotoxicity while an increase was observed soils with low organic matter content.

5.2.2 Introduction

The characterization of metal toxicity in terrestrial ecosystems is generally based on total metal soil concentrations. However, it is widely recognized that total metal concentration is not sufficient to evaluate the potential risk associated with contaminated soils [1]. Indeed, soil physicochemical properties also influence metal partitioning, and hence, its mobility, bioavailability and potential ecotoxicity. For instance, it has been shown that increasing pH and organic matter (OM) generally decreases the mobility of copper (Cu) in soils [2-3]. On the other hand, an increase in dissolved organic carbon, potentially caused by dissolution of organic matter at alkaline pH, can contribute to enhance Cu content in soil solution [4].

The influence of soil parameters on metal availability to organisms are frequently assessed by studying metal concentration in tissue [5-6]. Impellitteri et al. assessed the influence of soil characteristics on Cu uptake by lettuce, mustard and barley [3]. Their work, which grouped 5 previous studies on 41 soils from various countries, estimated at 80% the influence of pH and organic matter on the variability of Cu uptake. However, using the internal concentration approach to assess environmental risk is arguable (particularly for essential metals) because body concentration is often regulated [5]. Furthermore, the organisms' internal concentrations are not necessarily correlated with ecotoxicological effects [7]. Hence, estimating risk by using the uptake metal fraction has some limitations.

The influence of soil physicochemical properties on Cu ecotoxicity has been studied to a lesser extent than bioaccumulation and partitioning. Observations have nevertheless been made through reported tests. In fact, pH was shown to significantly contribute to lowering the Cu toxic effect on *Swingle citrumelo* and *Lumbricus rubellus* in natural

soils [8,9]. Organic matter and clay contents were also shown to contribute to decrease Cu toxicity as observed by Boyd and Williams. They measured *Caenorhabditis elegans* response on Albany soil (pH 6.1, 1.4% OM, 2% clay) and Cecil soil (pH 5.7, 5.1% OM, 10% clay) and found respectively LC₅₀ of 200 and 550 mg Cu/kg [10]. The most specific study on the relationship between soil physicochemical properties and Cu ecotoxicity was conducted by Lock and Janssen [11]. A central composite design of 12 artificial soils was constituted to quantify the influence of pH (4 to 7) and organic matter (0 to 10%) on copper toxicity to *Enchytraeus albidus* (mortality). A significant correlation was found between 14 days-LC₅₀, and pH as well as with cation exchange capacity (linked to % OM, $r^2 = 0.99$).

Ageing of metal contamination, on the other hand, has been poorly studied although some observations tend to show a difference between laboratory toxicity tests and field potential risk. A previous study on the subject showed a lower toxicity associated to 70 year-old contaminated field soils (sandy clays, pH 6.5-7.0) compared to toxicity in similar soils freshly spiked with CuCl₂ in the laboratory [12]. No decrease in reproduction was observed for *Folsomia fimetaria* up to a concentration of 2 900 mg Cu/kg in the field, while EC₁₀ reproduction was observed at 340 mg Cu/kg in the spiked soils. Lock and Janssen [13] also found a significantly greater Cu toxic effect in freshly spiked soils compared to field soils with similar properties, but the decrease in pH immediately after contamination may have lead to a bias in the conclusion. In a physicochemical perspective, it was demonstrated that the humidity regime has an influence on Cd, Cu, Cr, Ni and Zn redistribution over time. Following wetting and drying cycles for over 1 year, Han et al. [14] found that dissolved and exchangeable Cu fractions tended to decrease over time in a sandy soil and a loessial soil. In addition, Tom-Petersen et al. [15] observed a decrease in the dissolved Cu fraction as well as in the toxic response of *Pseudomonas fluorescens* over time in a sandy loam (pH 6.1, 1.4% OM, 3.7% clay).

The influence of soil physicochemical properties on Cu ecotoxicity has been studied to a small extent considering the number of representative terrestrial species and soil types. Moreover, publications on ageing of contaminated soils do not allow for a clear conclusion as to the quantification of the effect of ageing on the ecotoxic responses. The present study aimed to quantify the effect of soil pH, organic matter and clay content on the Cu ecotoxic response of two different organisms, *Hordeum vulgare* and *Eisenia fetida*, and to analyze the effect of wetting and drying of soils on this same ecotoxic response. Artificial spiked soils were chosen for homogeneity and the absence of interfering contamination.

5.2.3 Materials and Methods

5.2.3.1 Soil composition

For the purpose of this study, soils with a wide range of physicochemical properties were required. The soils also had to be homogenous and available in large quantities. For these reasons, synthetic soils were constituted in the laboratory with the following components: *Ottawa Standard C190* sand purchased from Daubois (QC, Canada), natural clay and silt, and Canadian Sphagnum peat moss (organic matter source) purchased from Berger Peat Moss (QC, Canada). Clay material from a borrow pit in Saint-Hilaire (QC, Canada) was used. It was mainly constituted of illite, which is the main clay material in Canada. Particle size distribution (dry wt.%) of the clay material was determined using the D-2487-98 method [16] and results showed it contained 70% clay ($< 2 \mu\text{m}$) and 30% silt ($< 75 \mu\text{m}$). Silt material from a borrow pit in Drummondville (QC, Canada) was used. Its particle size distribution, determined using the same method as before, was 15% clay ($< 2 \mu\text{m}$), 65% silt ($< 75 \mu\text{m}$) and 20% sand ($< 2 \text{mm}$). Components were all air-dried and sieved to 2 mm prior to soil constitution. The pH and initial Cu content were determined on each soil component.

A statistical design considering pH, organic matter and clay content was developed. The design aimed to represent most of Canadian surface soil properties. Organic matter content found in mineral soils can be less than 1% while for organic soils of the Hudson lowlands it can reach up to more than 30%. For its part, clay content can be as low as 5% in orthic humo-ferric podzol while it can reach 35% in humic gleysolic soils of the St-Lawrence river lowlands [17]. Hence, lower and upper limits of organic matter and clay content were set respectively at 1 to 30% and 5 to 35%. Lower and upper limits for pH were set at 5.5 and 7.5. pH lower than 5.5 are observed on the field but bioassay protocols set a constraint for the lower pH limit. For each pH value, five different soils were constituted from the following constraints [upper and lower percentages (w/w)] on the four soil components. These constraints were applied to the Experimental Design Module of Statistica Software [18]:

$$5 \% \leq \text{clay } (X_1) \leq 35 \% \quad (1)$$

$$1 \% \leq \text{organic matter } (X_2) \leq 30 \% \quad (2)$$

$$10 \% \leq \text{sand } (X_3) \leq 69 \% \quad (3)$$

$$\text{silt } (X_4) = 25 \% \quad (4)$$

In addition, the following constraint was imposed on the mixture design:

$$X_1 + X_2 + X_3 + X_4 = 100 \% \quad (5)$$

Figure 5.1 presents the five soils tested for each pH value. Four vertices (A, B, C, D) and a centroid soil (E) were necessary to evaluate single effects of soil components, as well as interactions between components (X_1 , X_2 , X_3) and pH (Z).

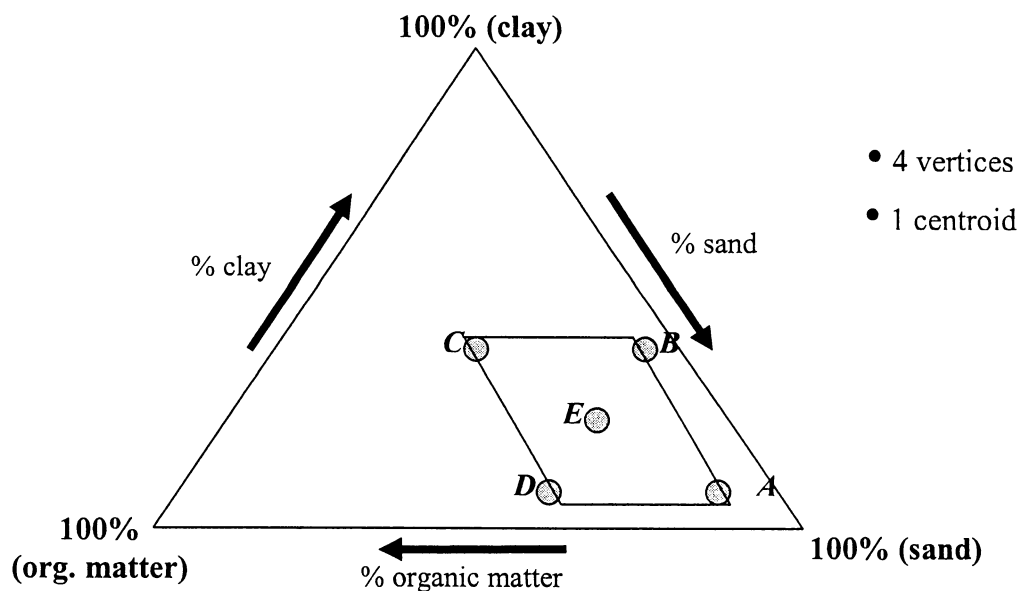


Figure 5.1: Statistical Design for the Constitution of Soils

Approximately 12 kg of each of the five soil types were constituted. After determination of water content at 105°C using method D-2974-87 [16], soil components were placed in a 30-L rotary mixer (~ 30 rpm) in the following order: clay, sand, peat and silt. Mixing was continuous through the addition of soils components. Agitation was performed at room temperature (22 ± 1 °C) for 1 hour until homogeneity.

The pH was adjusted before Cu spiking. Six kilograms of each soil type were acidified to a pH of 5.5 with NaHSO_4 salt (ACS grade) dissolved in deionized water (0.001 M), while the pH in the other 6 kg was increased to 7.5 with Ca(OH)_2 powder (ACS grade). Both chemicals were purchased from Anachemia (Lasalle, QC, Canada).

5.2.3.2 Soil contamination

From the 6 kg of each constituted soil, 3 kg were spiked with $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, while the balance was left uncontaminated. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ was preferred over CuCl_2 and $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ due to the greater toxicity of Cl^- and NO_3^- anions compared to SO_4^{2-} [19]. Soils were spiked with 6 000 mg of Cu per kilogram of dry soil. This concentration was chosen because it corresponds approximately to the EC_{50} (I.C. 95%) values for *Hordeum vulgare* growth inhibition (7 d shoot length; 7 d root length) and *Eisenia fetida* mortality (LC_{50} 14 d) in the centroid soil E at pH 7.5 obtained in a preliminary test. In addition, this level of contaminant can be compared to concentrations found on highly contaminated sites. For example, concentrations up to 7 000 mg/kg were observed near bronze statues in Belgium [13] and up to 3 000 mg/kg (without any toxic effect) in urban contaminated soil in Montreal [20]. A $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ solution (4 000 mg/L) was used to spike each soil. Hence, a soil: solution ratio of 1:1.5 (w/v) was obtained to get a homogeneous solution during agitation. Agitation was achieved in a customized end-over-end mixer at 30 rpm during a 24-hour mixing period followed by a 72-hour resting period to allow for Cu adsorption. These time periods were chosen according to Balasoiu et al [21] who studied the influence of ageing on the adsorption of a chromated copper arsenate solution in similar conditions. After 48 hours of incubation, 0.5% of the total Cu content was still in solution, while after 120 h, 0.4% remained. Likewise, for different amounts of Cu added to a sandy loam, Tom-Peterson et al. [15] observed a mean Cu adsorption of 98% after one hour, while after 3 days of ageing at 100% field capacity, Cu adsorption reached 99% (99.5% after 220 days). After contact with the solution, soils were centrifuged (Beckman, model J2-21) in 500-ml polypropylene bottles for 30 minutes at 10 000 rpm (4 000 g) to remove the supernatant. The pH was readjusted after spiking using the same procedure as before contamination. Soils were then air-dried ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) for 5 days and soils were stored in closed HDPE jars at room temperature until the beginning of the experiment.

5.2.3.3 Experimental design

Contaminated and corresponding uncontaminated soils were placed in 20 closed reactors of 10 or 20 L depending on the soil density: one reactor per type of soil. At the start of the experiment ($t = 0$ week), chemical and toxicological testing were performed on each contaminated soil. More specifically, total Cu and chemically extracted fractions of Cu [water, CaCl_2 and diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)-extracted Cu], as well as cation exchange capacity (CEC), pH, dissolved organic carbon (DOC) and volatile solids were tested on three samples from each contaminated soil to test homogeneity. Bioassays were performed simultaneously on five replicates of both contaminated and uncontaminated soils. Using soil names shown in table 5.1, soils A1, C1, D1, E1, B2 and D2, a dose-response slope was determined by testing three replicates per concentration. To simulate changing humidity conditions over time, soils at pH 7.5 were subjected to wetting and drying cycles [14]. These soils were chosen based on Lock and Janssen [22] who observed a more significant effect of ageing on zinc partitioning and toxicity with increasing soil pH. Cycles began with two days of wet conditions (80% field capacity) followed by twelve days of air-drying ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). These cycles were repeated during 16 weeks. Chemical and toxicological analysis performed at the beginning of the experiment ($t = 0$) were repeated at the end ($t = 16$ weeks). During the ageing period, at $t = 2, 4$ and 8 weeks, each contaminated soil was tested for pH and volatile solids on two soil samples as well as for DOC, total Cu and Cu fractions on three soil samples.

5.2.3.4 Physicochemical characterization of soils

The pH of soil individual components (sand, clay, silt) and contaminated and uncontaminated soils was determined according to the ASTM D-4972-95a method using a soil: distilled water ratio of 1:4 (w/v) [16]. Organic matter (Sphagnum peat

moist) pH was measured according to the ASTM D-2976-71 method using a soil: water ratio of 1:16 (w/v) [17]. Tubes were sealed and agitated for 30 minutes on a wrist action shaker (Burrell model 75). The pH was measured in duplicate after 48 hours of decantation (Orion Ross 8175 BN Electrode, Accumet model 25 pH-meter). Volatile solids content of contaminated soils was obtained by heating samples to 550°C [23]. CEC of contaminated soils was determined in triplicate following the sodium acetate method (pH = 8.2) [24]. The DOC content of contaminated soils was determined in triplicate by shaking 3 g of soil in 30 ml of deionized water (1:10 (w/v)) for 2 hours on a wrist action shaker (Burrell, model 75) and centrifuging for 20 minutes at 15 000 rpm (27 000 g) prior to being filtered on a Whatman GF/F 0.7 µm borosilicate glass filter. The filtrate was treated for total organic carbon content by combustion following Standard Method 5310B [25]. Finally, field capacity was measured by weighting the water content in the saturated soils obtained by inundation of soils with hot water (70°C) during 30 minutes and percolation on a Whatman GF/C paper filter until the interval between 2 drops of water reached 10 minutes (without any drying on the top of the soil sample).

5.2.3.5 Chemical extractions and analysis

Contaminated and uncontaminated soil samples were digested with hot acid on a heating plate to measure total Cu content: 1.2 g of soil was digested twice with 20 ml of concentrated HNO₃ at 150°C for 1 h, then with concentrated HClO₄ (15 ml) and HF (1 ml) for 2 h at 150°C and finally filtrated on a Whatman GF/F 0.7 µm and diluted to 100 ml with deionized water [20].

Three Cu fractions were extracted in order to evaluate the correlation between Cu and its toxicity:

- a) dissolved (deionized water, pH = 7)
- b) dissolved and exchangeable (CaCl₂ 0.5 M solution, pH = 7)

- c) dissolved, exchangeable and complexed with organic matter (0.005 M DTPA + 0.001 M CaCl_2 + 0.1 M triethanolamine (TEA) solution, pH = 7.3)

The dissolved fraction was extracted following a modified procedure proposed by Scott-Fordsmand et al. [12]. Soil samples of 3 g were added to 30 ml of deionized water (1:10 (w/v)) in 40 ml polypropylene centrifugal tubes. The tubes were shaken on a wrist action shaker for 2 h and centrifuged 20 minutes at 15 000 rpm (27 000 g) prior to being filtered on a Whatman GF/F 0.7 μm filter.

The dissolved and exchangeable fraction was extracted with a 0.5 M CaCl_2 solution according to the procedure proposed by Esnaola et al. [26]. Hence, the procedure was the same used for extracting the dissolved Cu fraction.

The extraction method using DTPA (diethylenetriamine-pentaacetic acid) was originally developed to assess essential metal deficiency [27]. However, the chelating properties of DTPA have already been used in contaminated soils to study metal uptake in plants [6]. For the purpose of the present study, the extraction was performed with 1.5 g of soil sample in 15 ml of solution (soil: solution ratio of 1:10) instead of 1:2 ratio (w/v) to reduce the risk of complexing site saturation [26]. The tubes were then placed on a wrist action shaker for 2 h [27]. After agitation, samples were centrifuged at 15 000 rpm (27 000 g) prior to being filtered on a Whatman GF/F 0.7 μm filter.

Cu content in all soil extracts was determined by ICP-MS analysis (Anjou, QC, Canada). The detection limit of the method was 0.01 mg/l.

Furthermore, partition coefficients (K_d) were derived from total Cu and dissolved Cu fractions according to the following equation in order to better compare metal mobility with published results [2]:

$$K_d = \frac{\text{total soil Cu concentration (mg/kg)}}{\text{Cu in the water extract (mg/L)}} \quad (6)$$

5.2.3.6 Ecotoxicological analysis

Two organisms from two distinct phylum were chosen for their direct contact with the soil matrix: the compost worm *Eisenia fetida* and barley, *Hordeum vulgare*.

Eisenia Fetida Mortality

Eisenia fetida survival tests were carried out according to a modified version of the standard procedure of Quebec's Ministry of the Environment [28]. Ten adult *E. fetida* earthworms with clitellum (300-600 mg) were placed in a 500-ml polypropylene jar containing 200 g of moist soil (80% field capacity). Bioassays were conducted under dark conditions in a controlled-temperature chamber set to $20 \pm 2^\circ\text{C}$, for 14 days, at constant moisture content. Soil pH remained constant during the test. Estimation of mortality was performed on the 7th and 14th day. The experiment was performed using five replicates. Uncontaminated soils were used as negative controls. The experiments were also conducted with contaminated soils diluted with the corresponding uncontaminated soil using different ratios to provide a range of concentrations. The performed dilutions were 100%, 75%, 56%, 42% and 32% (soils B2, D2 and E2) and 100%, 75%, 50%, 25%, 12.5% (soils A1-E1). Tests on diluted soils were carried out in triplicate. Results were expressed in percentage of effect compared to the control (uncontaminated soil).

Hordeum Vulgare Germination and Growth Inhibition

Hordeum vulgare germination and growth inhibition tests were conducted according to a modified version of the standard procedure of Quebec's Ministry of the Environment [29]. Samples (15 g wet soil, 80% field capacity) of sieved (< 2 mm)

soil were transferred in 25-ml sealed jars in a controlled-temperature chamber set to $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Seeds of *H. vulgare* (Coopérative régionale de Rivière-du-Loup, QC, Canada) were sown for germination under a photoperiod (light: dark cycle) of 16: 8 h at a light intensity of $4\,300 \pm 10\%$ lux for 7 days. The pH and conductivity of soils were kept approximately constant during the test. The experiments were conducted on five replicates with 5 jars per replicate and one seed per assay recipient. On day 7, the percentage of germination was recorded and root and shoot lengths were measured. Corresponding uncontaminated soils were used as negative controls. As for the worm bioassay, the experiments were conducted with contaminated soils diluted with the corresponding uncontaminated soil using different ratios and the performed dilutions were the same as previously stated for the worm bioassay. Tests on diluted soils were performed in triplicate. Results were expressed in percentage of effect compared to the control (uncontaminated soil).

5.2.3.7 Statistical analysis

Considering the statistical design developed for the constitution of soils, variables affecting toxic responses can be structured according to equation 7. In fact, toxic responses of organisms (Y) can be explained by single effects of each soil component and total Cu content (W), as well as interaction of pH (Z) with organic matter % (X_1) and clay % (X_2).

$$Y = a_1X_1 + a_2X_2 + a_3W + Z(a_4 + b_1X_1 + b_2X_2) + c_1 \quad (7)$$

where a_1 , b_1 , a_2 , b_2 , a_3 , a_4 and c_1 are constants to be determined

Mathematical transformations (log-probit) were used to provide better regressions of toxicity against soil properties. This kind of transformation is often used in ecotoxicology when studying dose-response relationships [30]. No toxic effect and 100 % toxic effect measurements were rejected for the statistical analysis, since they

could not explain the effect magnitude. Significance of parameters was determined at $p < 0.05$.

Analysis of the evolution of the parameters over time was performed using a student test (bioassays) and ANOVA (physicochemical testing). All statistical data treatment was performed with STATISTICA 5.1 version software [18].

5.2.4 *Results and discussion*

5.2.4.1 Physico-chemical characteristics

The pH adjustment gave two clearly distinct groups of soils: soils A1 through E1 with a pH of 5.6 ± 0.1 and soils A2 through E2 with a pH of 7.5 ± 0.1 (Table 5.1). To verify the theoretical content of organic matter in the soils, volatile solids measurement was used. Results were similar to the expected organic matter content: they ranged from 1.5% to 31%. Table 5.1 also presents soil CEC results. Values varied from less than 11 meq/100 g in the sandy loam (A) to more than 84 meq/100 g in organic soils C and D. Generally, clay loams (as soil B) show CEC values between 4 and 58 meq/100 g, whereas values for sandy loams range from 2.5 to 17 meq/100 g [1]. In this study, CEC was highly influenced by organic matter while only slightly by clay. Indeed, peat was shown to have the greatest CEC (324 meq/100 g), followed by illite clay material (34 meq/100 g). Hence, CEC is strongly correlated to organic matter ($r^2 = 0.991$). Finally, DOC content in soils varied from 60 mg/kg in slightly acid clay (B1) to 1 700 mg/kg in organic sand at pH 7.5 (D2). Organic matter is the main variable influencing DOC, although pH clearly contributed in enhancing the solubility of organic matter.

Table 5.1: Contaminated soils physicochemical properties (t=0 week)

Soils	Statistical design			Measured values				
	pH	Clay (% w/w)	OM (% w/w)	pH ^a	CEC ^a (meq/100g)	Volatiles ^a (% w/w)	DOC ^b (mg/L)	Field capacity ^a (g water/g)
A1	5.5	5	1	5.49	10.9	1.5	11	--
B1	5.5	35	1	5.58	23.1	2.7	6	--
C1	5.5	35	30	5.52	84.7	28.7	87	--
D1	5.5	5	30	5.62	86.7	28.4	63	--
E1	5.5	20	15.5	5.69	50.7	15.5	27	--
A2	7.5	5	1	7.39	6.5	1.5	28	0.21
B2	7.5	35	1	7.38	15.8	3.1	20	0.32
C2	7.5	35	30	7.57	84.0	30	120	1.81
D2	7.5	5	30	7.49	85.1	31	170	1.74
E2	7.5	20	15.5	7.39	52.7	15	52	1.01

^a: mean values are calculated from two different determinations

^b: mean values are calculated from three different determinations

5.2.4.2 Total copper concentration

Soils were contaminated according to a procedure including a lixiviation step. The 10 different soils retained different total copper concentrations (Cu_{TOT} - Table 5.2). The slightly acid sandy loam (A1) retained approximately 37% of the Cu applied, while other soils retained between 84% and the entire Cu charge applied (~ 6 000 mg/kg). Higher retention of metals in clayey and organic soils than in sandy soils were also observed in a previous study using the same contamination procedure [21].

Table 5.2. Total copper concentration and partitioning in the contaminated soils (t = 0 and 16 weeks)

Soil	Total		Dissolved		Dissolved and exchangeable		Sol., exch. and complexed to OM		K _d
	(mg/kg) ^a	(%w/w) ^b	(mg/kg) ^a	(%w/w) ^c	(mg/kg) ^a	(%w/w) ^c	(mg/kg) ^a	(%w/w) ^c	
week 0									
A1	2231 ± 395	37 ± 7	1601 ± 29	72 ± 1	1958 ± 326	85 ± 19	1941 ± 115	87 ± 5	14
B1	5041 ± 143	84 ± 2	221 ± 4	4.39 ± 0.08	576 ± 28	11.4 ± 0.6	1653 ± 103	33 ± 2	228
C1	6811 ± 767	113 ± 13	80 ± 7	1.1 ± 0.1	569 ± 7	8.4 ± 0.1	2961 ± 252	44 ± 4	851
D1	5116 ± 955	85 ± 16	114 ± 8	2.2 ± 0.2	647 ± 36	12.7 ± 0.7	2878 ± 188	56 ± 4	449
E1	5597 ± 800	93 ± 13	178 ± 3	3.18 ± 0.05	1000 ± 59	17.9 ± 1.1	3055 ± 354	55 ± 6	314
A2	5273 ± 507	88 ± 8	4.6 ± 0.5	0.087 ± 0.009	14 ± 3	0.27 ± 0.05	2758 ± 361	53 ± 7	11 500
B2	5984 ± 286	99 ± 5	1.8 ± 0.7	0.03 ± 0.01	9.3 ± 0.8	0.16 ± 0.01	3585 ± 14	61.3 ± 0.2	33 200
C2	6021 ± 250	100 ± 4	2.7 ± 0.4	0.047 ± 0.007	14.52 ± 0.02	0.23 ± 0.02	3392 ± 118	58 ± 2	22 300
D2	6190 ± 470	103 ± 8	5.6 ± 0.2	0.087 ± 0.004	22 ± 3	0.34 ± 0.05	3278 ± 66	51 ± 1	11 100
E2	5658 ± 1010	94 ± 17	3.1 ± 0.5	0.06 ± 0.01	15.9 ± 0.8	0.31 ± 0.02	2909 ± 82	57 ± 2	18 300
week 16									
A2	5803 ± 550	97 ± 9	4 ± 2	0.07 ± 0.04	14.61 ± 0.02	0.25 ± 0.02	1900 ± 400	33 ± 10	14 500
B2	6351 ± 610	106 ± 10	3 ± 2	0.05 ± 0.04	13 ± 4	0.21 ± 0.08	3200 ± 300	50 ± 10	21 200
C2	6608 ± 860	110 ± 14	5 ± 3	0.08 ± 0.06	9.1 ± 0.1	0.14 ± 0.02	3460 ± 80	52 ± 8	13 200
D2	5506 ± 400	92 ± 7	5.4 ± 0.4	0.10 ± 0.01	11.71 ± 0.04	0.21 ± 0.02	4800 ± 300	87 ± 12	10 200
E2	6133 ± 150	102 ± 3	5 ± 2	0.08 ± 0.03	16.1 ± 0.8	0.26 ± 0.02	2800 ± 100	46 ± 3	12 300

^a: Mean values and standard deviations are calculated from three different samples^b: Mean values are calculated as $\frac{\text{total Cu}}{\text{total Cu} + \text{added Cu}} \times 100$ ^c: Mean values are calculated as $\frac{\text{Cu fraction}}{\text{total Cu}} \times 100$

5.2.4.3 Chemically extracted fractions of copper

At the beginning of the experiment ($t = 0$ week), parallel extractions of Cu in soils using deionized water, CaCl_2 0.5 M and DTPA were performed to assess, respectively, the dissolved; dissolved and exchangeable; and, dissolved, exchangeable and complexed to organic matter Cu fractions. Results obtained for these extractions are shown in Table 5.2. First, water-extracted Cu concentrations varied from less than 0.1% of the total Cu content in soils at pH 7.5 (A2 through E2) to 72% for the slightly acid sandy loam (A1). These results show a strong influence of pH on the dissolved fractions. An increase in pH decreased dissolved Cu mainly by precipitation and enhancement of adsorption [1]. While no significant differences were found between dissolved Cu fractions in soils at pH 7.5, slightly acid soils (pH 5.5) showed a clear difference between sandy loam (A1) (72% of Cu_{TOT}) and other soils (B1 through E1 – 1 to 4 % Cu_{TOT}). At pH 5.5, increasing CEC dominated the retention of Cu on the solid phase, while at pH 7.5, clay dominated the retention on solid phase and DOC increased its solubility. The second extraction performed with CaCl_2 0.5 M revealed Cu concentrations ranging from 0.16% of the total Cu content in soil B2 to 85% in soil A1. The dissolved and exchangeable Cu fraction varied in the same way as the dissolved fraction at pH 7.5. However, at lower pH (5.5), clay contributed more than organic matter to the decrease in the dissolved and exchangeable Cu fraction. This is probably because organic matter has a higher CEC than clay and as such, more Cu could have become fixed on the electrostatic sites in the organic sand D1, compared to the clay loam B1. Lehmann and Harter [31] reported that specific sites are first filled up to saturation and then, exchange sites are used. Globally, the dissolved Cu fraction explained 80% of CaCl_2 (0.5 M)-extracted Cu variability, which represented the dissolved and exchangeable fraction (Table 5.3). Both previous fractions are negatively correlated to the total Cu fraction probably because part of the readily dissolved copper percolated during the contamination procedure.

Table 5.3: Correlation coefficients (r) between chemically extracted fractions of copper (t= 0 week)

	Dissolved Cu (mg/kg)	Dissolved and exchangeable Cu (mg/kg)	Dissolved, exch. and OM-complexed Cu (mg/kg)
Total Cu (mg/kg)	-0.873 (p<0.001)	-0.825 (p <0,001)	0.527 (p=0.006)
Dissolved Cu (mg/kg)	---	0.900 (p<0.001)	-0.513 (p=0.007)
Dissolved and exch. Cu (mg/kg)		---	-0.508 (p=0.008)

Finally, DTPA-extracted Cu represented between 33% of the total Cu concentration in soil B1 to 87% in soil A1. The DTPA-extracted Cu fraction was influenced by pH and total Cu content. Considering the similar DTPA-extracted Cu concentrations at pH 7.5, it is possible that DTPA dissolved metal precipitates formed at this higher pH [32]. At pH 5.5, total Cu content and organic matter affected the difference between DTPA and CaCl_2 -extracted Cu fractions which is believed to express the Cu complexed with organic matter [33]. The DTPA-extracted fraction is positively correlated to total Cu (Table 3). Both latter Cu concentrations are linked to the Cu fixed on the solid phase because of their negative correlation to the dissolved fraction ($r = -0.873$, $p < 0.001$).

Soil/water partition coefficients (K_d) were derived from total and dissolved Cu concentrations. Equation 8 shows that partitioning was significantly related to soil properties. K_d values varied by 3 orders of magnitude: from 14 L/kg in soil A1 to 34 000 L/kg in soil B2 (Table 2). The pH alone explained more than 80% of K_d variability, while adding organic matter increased it to 91%.

$$\text{Log}K_d = -6.386 + 1.288 \times \text{pH} + 0.154 \times \text{OM}\% + 0.019 \text{ clay}\% - 0.012 \text{ pH} \times \text{OM}\% \quad (8)$$

$$r^2 = 0.965$$

Equation 8 showed a negative interaction between pH and organic matter which displayed that DOC increased Cu mobility. DOC in the present study was explained by pH and organic matter content ($r^2 = 0.86$). Findings are in accord with previous studies. Indeed, 300 Cu K_d values from published results were linked to soil pH, organic matter and total Cu ($r^2 = 0.61$) [2]. K_d values varied by 4 orders of magnitude. Another publication estimated a 70% K_d variability accountable to pH and organic matter on 41 soils with a wide range of properties [3]. Finally, the pH, DOC and Fe oxides explained 76% of K_d variability in a group of 20 soils with pH contribution to K_d accountable for 54% and DOC showing a negative contribution to K_d [34].

The effect of ageing on Cu partitioning in soils (pH 7.5) showed no significant difference in the dissolved Cu concentrations between 0 and 16 weeks (table 5.2). It should be noted that the absolute concentrations of Cu in the water extracts were very low and often near the detection limit. However, a significant decrease in dissolved and exchangeable fractions in organic soils C2 and D2 was observed. In other studies, a similar decrease over time was observed for this fraction in different soil types [14]. Table 5.2 shows an increase in DTPA-extracted copper concentration in soil D2 over time (the increase was only observed between the 8th week and 16th week). The unexpectedly high value at t=16 week might be related to an increase of the copper fraction complexed to solid organic matter over time. Previous studies demonstrated that Cu becomes preferably sorbed on the oxidizable phase of soil over time [14, 35]. Figure 5.2 shows a significant increase in DOC after a first wetting and drying cycle (2 weeks), followed by a decrease in DOC over time ($p < 0.05$). The first observation is consistent with a previous publication that showed an increase in organic matter solubility in remoistened soils following air-drying [36], while the decrease in DOC

could be explained by the mineralization of organic matter [37]. However, a significant difference between initial and final DOC content was only found in soils D2 and E2. A pH and DTPA-extracted fraction reductions were observed in soil A2, while no significant evolution in dissolved nor dissolved and exchangeable fractions was observed.

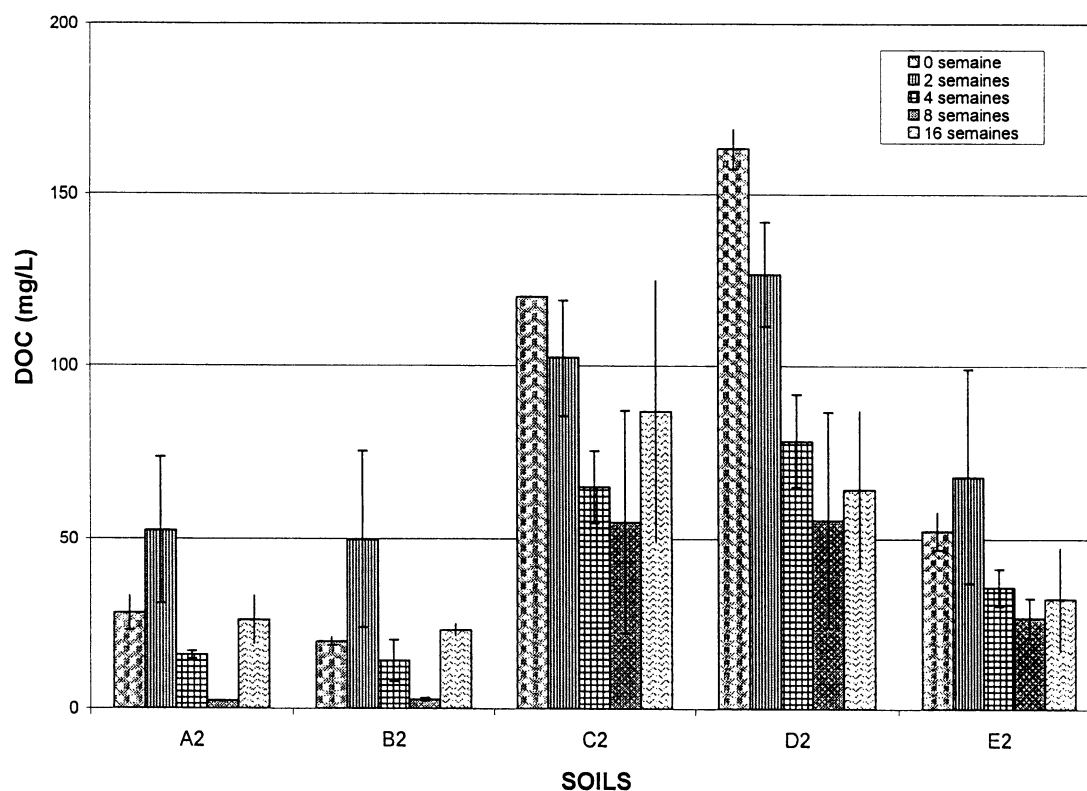


Figure 5.2: Evolution of DOC over time in contaminated soils

5.2.4.4 Ecotoxic response associated to copper contaminated soils

Inhibition of barley growth and earthworm mortality in contaminated soils were compared to their respective uncontaminated soil at $t = 0$ week (Figure 5.3). Of the ten soils tested, soil B1 was the only one to show total inhibition in both contaminated

and uncontaminated soils. Hence, soil B1 was not relevant for further analysis. An unfavourable texture (acid clay) combined with high content of aluminium and manganese in natural clay could be a possible explanation for the inhibition observed. In fact, measured parameters such as root length (cm) varied up to a factor of 3 between uncontaminated soils thus demonstrating the influence of soil properties on growth of *H. vulgare*.

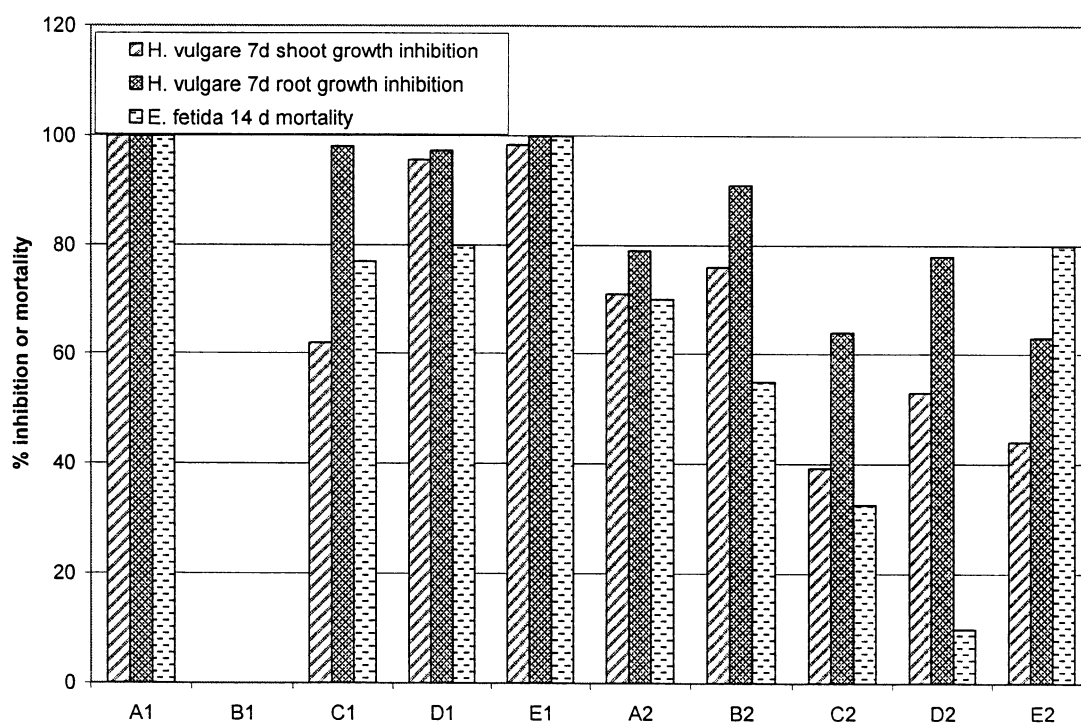


Figure 5.3: Toxic effects of copper on non contaminated soils

The ecotoxic responses measured in the nine other soils, and presented in Figure 5.3, varied between 10% and 100% for earthworm mortality and between 40% and 100% for barley growth inhibition. The most toxic soils were A1 and E1, while C2, D2 and E2 were less so. Results showed a poor correlation between toxic responses and total Cu concentration (Table 5.4). Organisms expressed a sensitive response in soil A1 (100% inhibition), while its Cu content was 2 to 3 times smaller than the total Cu

concentration in other soils. It has already been well-recognized that total Cu concentration is a poor predictor of ecotoxicity [6-13].

Table 5.4: Correlations between toxic responses and copper fractions (t= 0 week)

Measured Effect	Fractions of copper (mg/kg)			
	Total	Dissolved	Diss. + exchangeable	Diss. + exch.+ OM-complexed
<i>H. Vulgare</i>	-0.616	0.483	0.664	-0.379
Root growth inhibition (%)	(0.002) *	(0.020) *	(0.001) *	(0.074)
<i>H. Vulgare</i>	-0.348	0.405	0.661	-0.243
Shoot growth inhibition (%)	(0.103)	(0.055)	(0.001) *	(0.264)
<i>E.fetida</i>	-0.596	0.395	0.551	-0.504
Mortality (%)	(0.003) *	(0.062)	(0.006) *	(0.014) *

*: $p < 0.05$

a) *Copper potentially toxic fraction*

Cu partitioning was studied to find potentially toxic fractions of Cu in soils (Table 5.4). Barley growth inhibition and earthworm mortality were significantly correlated with CaCl_2 (0.5 M)-extracted fractions (dissolved and exchangeable Cu) ($p < 0.01$). This corroborates the finding that weak neutral salt solutions such as CaCl_2 (0.01 M) have been linked to Cu uptake and toxicity in plants [38] and to Cu toxic response of invertebrates [13]. Water-extracted fractions (dissolved Cu) were significantly related to root growth inhibition.

Total Cu content and DTPA-extracted Cu fractions (dissolved, exchangeable and complexed to organic matter) could not explain the toxic responses (negative r

coefficient). This is contrary to findings in a previous publication which showed that the DTPA-extracted Cu fraction was correlated to plant uptake of Cu [6]. From our findings, DTPA does not seem to be a relevant extracting agent to explain the potentially toxic Cu fraction in contaminated soils. Similar conclusions were reached in a previous study [38]. The best predictor of Cu toxicity was found to be the CaCl_2 -extracted Cu fraction which could explain roughly between 30 and 44% of toxicity variability. However, analysis of the remaining soil was not convincing (result not shown). CaCl_2 -extracted Cu could not explain toxicity in soils at pH 5.5 nor at pH 7.5 when these data were taken separately.

b) *Influence of soil properties on ecotoxic response*

Adding results from the dilution tests (bioassays) allowed for the development of regressions between Cu ecotoxicity and soil properties (Table 5.5).

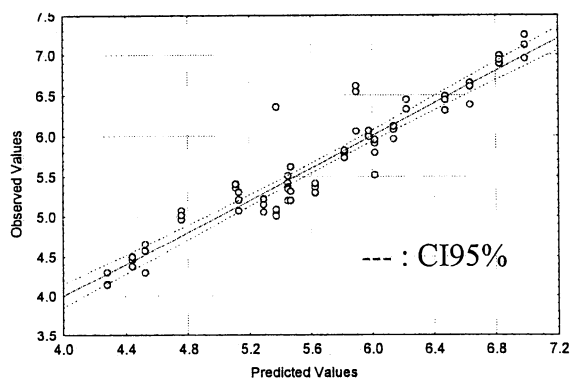
Table 5.5: Regressions between toxic responses and soil properties (t=0 week)

Effect (probit value)	Equation	R^2
<i>H. vulgare</i>		
Inhibition root elongation	$= 2.8568 \log \text{Cu}^a - 0.7726 \text{pH} - 0.0142 \text{OM}^b - 0.0087 \text{clay}^b + 1.2170$	0.920
<i>H. vulgare</i>		
Inhibition shoot elongation	$= 2.6835 \log \text{Cu}^a - 1.7623 \text{pH} - 0.2918 \text{OM}^b - 0.1283 \text{clay}^b$ $+ 0.0353 \text{pH OM} + 0.0161 \text{pH clay} + 8.9081$	0.742
<i>E. fetida</i>		
Mortality	$= 2.6827 \log \text{Cu}^a - 0.8185 \text{pH} - 0.0410 \text{OM}^b - 0.0201 \text{clay}^b + 2.0779$	0.480

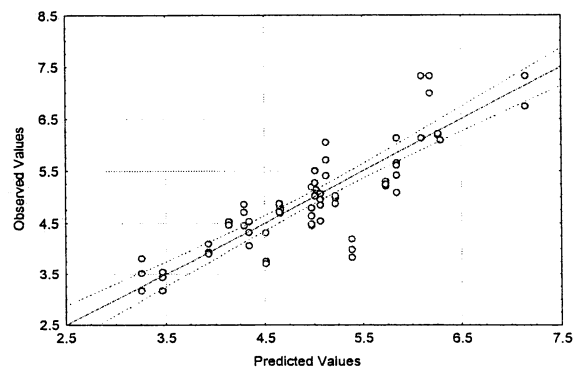
^a: Cu concentration is expressed in mg/kg

^b: Concentrations are expressed in %w/w

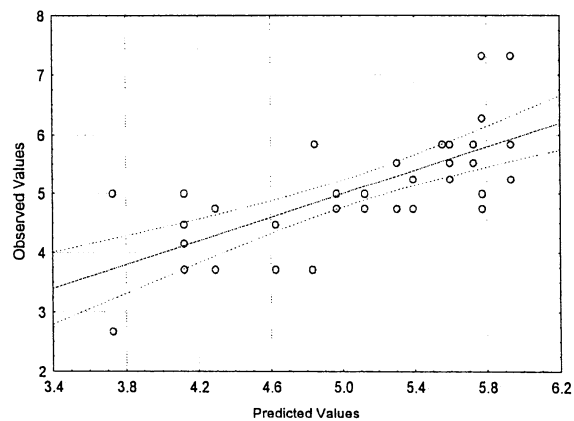
The increase in pH and organic matter content was the most significant variable contributing to a decrease in ecotoxicity [$r^2 = 0.3$, $p < 0.01$ (barley shoot and earthworm); $r^2 = 0.9$, $p < 0.001$ (barley root)]. Clay content also significantly contributed to lower the ecotoxicity, but to a lesser extent ($r^2 = 0.2$ to 0.4 ; $p < 0.05$). Regressions with explained variability of 75% were found for barley growth inhibition of shoot elongation and 92% for root elongation. Soil pH, organic matter and clay could explain 48% of the variability in earthworm mortality. Moreover, toxicity residues were well distributed around the mean slope (Figure 5.4).



(A)



(B)



(C)

Figure 5.4: Analysis of residues for *Hordeum vulgare* root elongation inhibition (A), shoot elongation inhibition (B) and *Eisenia fetida* mortality (C)

On the other hand, Cu toxicity had been lowered by the spiking procedure. For example, in an artificial soil (pH = 6.1, 9% OM, 15% clay), an LC₅₀ of 768 mg Cu/kg for *E. fetida* and an EC₅₀ of 686 mg Cu/kg for *H. vulgare* root growth inhibition were observed in Aquaterra [39] (available on USEPA ECOTOX database), while the predicted values with the developed regression were respectively 1 586 and 1 160 mg Cu/kg (Table 5.5). A study on the effect of zinc on the reproduction of *F. candida* showed a difference by a factor of 2 between EC₅₀ in a freshly spiked soil and a percolated soil, and up to a factor of 5 between freshly spiked and field-aged soil [40]. In addition, no effect was observed on *L. terrestris*, a more sensitive species than *E. fetida*, for a Cu concentration of 3 000 mg/kg on a field soil [20]. Other factors might have influenced the toxic response. The clay material used in the present study was illite (25-40 meq/100 g) which generally has a greater CEC than kaolinite (1-15 meq/100 g), used in artificial soils [11]. The presence of natural silt material (25%) might have increased adsorption on the solid phase. Hence, the use of a different type of clay such as montmorillonite instead of illite might have changed the correlation established with the clay content. The choice of a different organic source might also have had an influence on the organic matter contribution. In different published studies though, CEC was found to express invertebrate toxicity better than organic matter and clay [10-11]. Hence, a relationship with CEC has been proposed in previous publications to replace organic matter and clay content in assessing toxicity. Contrary to these studies, the present study found that relationships with CEC generated slightly poorer fits than organic matter and clay content (results not shown). Other properties of organic matter and clay such as texture, chelating properties and specific adsorption on Fe, Al and Mn oxides cannot be taken into account with CEC. For instance, CEC could not explain complexation with dissolved organic matter which is an important mechanism for Cu in soil [1].

c) *Effect of ageing on ecotoxicity*

Testing zinc-spiked and historically-contaminated soils for partitioning and toxicity showed a more significant effect of ageing with increasing soil pH [22]. For this reason, soils at pH 7.5 were chosen to pursue an ageing process in the present study. Results measured for *E. fetida* mortality showed no significant difference between freshly spiked and aged soils, although soils A and B showed a slight increase in toxicity while the opposite was observed for soils C and E (Figure 5.5). *H. vulgare* growth showed a significant increase in root elongation inhibition for soils A2 (15%) and E2 (15%) and a significant decrease in root and shoot elongation inhibition for soil D2 (5%; 20%). No particular trend could be related to the ageing period. It should be noted, however, that the spiking procedure used in this study represented, in itself, a type of ageing and that by percolating the soil with water before toxicity testing reduced the difference between the aged and laboratory-treated soils [40]. The rise in toxicity in soil A2 could not be separated from the pH reduction (from 7.4 to 7.1) so it is possible that this reduction might have contributed to toxicity enhancement, as observed in previous studies [8-9]. A reduction in toxicity and in the dissolved and exchangeable Cu fraction in soil D2 ($47 \pm 7\%$) could indicate a redistribution of Cu on stronger binding sites of the solid phase. Studies have shown that Cu becomes preferably sorbed on the oxidizable phase of soil over time [14, 40]. In soil E2, a DOC reduction of $40 \pm 20\%$ was accompanied by an increase in root growth inhibition (15%). Tom-Petersen et al. [15] noted an increase over time in the proportion of toxic Cu to *Pseudomonas fluorescens* found in the dissolved Cu fraction. This might be the result of DOC mineralization, forcing Cu complexed to it to stay in solution under inorganic forms [37].

The present study showed that in general, organic soils (C2, D2) tend to become less toxic over time while non organic soils (A2, B2) behave the opposite way; the two trends were significantly different ($p = 0.002$). Moreover, better correlations with soil properties (organic matter and clay) were found after the ageing period: from $r^2 = 0.8$ to 0.9 depending on the ecotoxic response instead of $r^2 = 0.4$ to 0.6. Two mechanisms

could explain this observation. First, a decrease in dissolved organic carbon could force Cu-DOC to dissociate in solution and release more toxic forms of Cu. Second, exchangeable Cu sorbed on organic matter could redistribute on stronger binding sites available on solid organic matter.

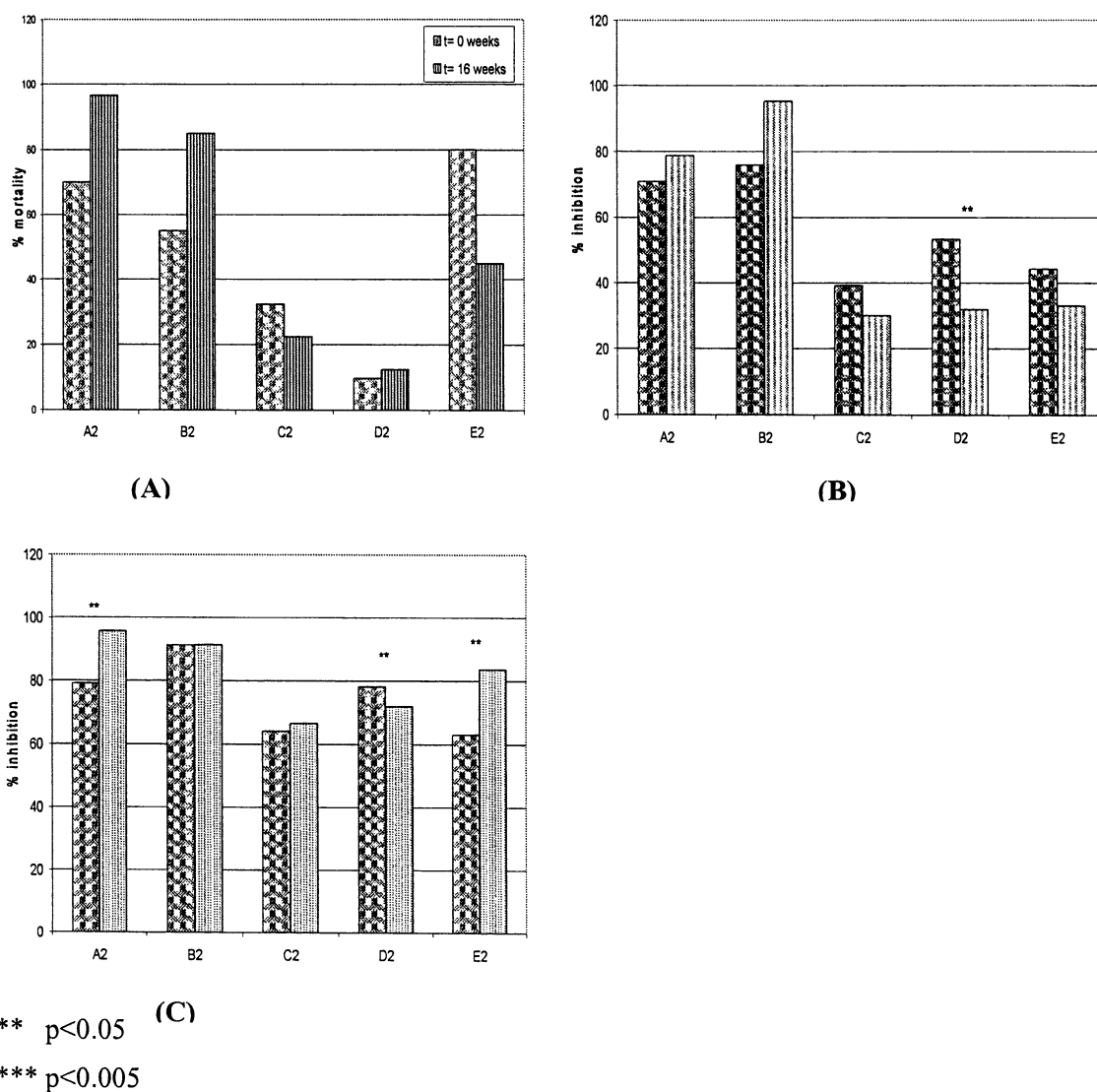


Figure 5.5: Ecotoxicity of copper in before and after ageing - Mortality of *Eisenia fetida* (A); Inhibition of *Hordeum vulgare* shoot elongation (B); Inhibition of *H. vulgare* root elongation (C)

5.2.5 Conclusion

This study showed the influence of soil properties on mobility and ecotoxicity of copper. First, copper partitioning between dissolved and solid phases in soils which reflects mobility varied by three orders of magnitude. More precisely, the dissolved Cu fraction increased with decreasing pH, organic matter content and clay content. The dissolved Cu fraction also increased with increasing DOC (or the interaction between pH and organic matter). In addition, Cu toxicity was also increased by decreasing pH, organic matter content and clay content. However, the dissolved Cu fraction alone was not able to significantly explain barley shoot inhibition and earthworm mortality. Cu extracted with CaCl_2 was the best predictor of toxicity for all measured effects, but could only explain between 30 and 44% of toxicity. Variability in barley growth inhibition directly explained by Cu content and soil properties, ranged between $r^2 = 0.75$ (shoot) and $r^2 = 0.92$ (root). On the other hand, only 48% of the variability in *E. fetida* mortality was explained by soil parameters and Cu content. Further investigation is needed to develop a better understanding of soil parameters on *E. fetida* behaviour in the presence of Cu. Chronic tests such as avoidance would probably be more effective since earthworms tend to split into a few parts at lethal concentrations. On another hand, the influence of time on ecotoxicity associated to copper contaminated soils was also studied. The ageing process on soils at pH 7.5 showed organic soils became less toxic while other soils increased in toxicity (non-significant). The aged soils already contained low labile Cu concentrations making the assessment of Cu partitioning and toxicity variability difficult. Further validation on soils with pH buffered by carbonates is also needed before using relations developed in the present study between soil properties and, mobility and ecotoxicity.

5.2.6 Acknowledgement

This work was made possible through funding from Valorisation Recherche Québec (VRQ). The authors also wish to acknowledge the Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ) for their contribution in the realization of soil bioassays and Prof. Bernard Clément from the Department of Mathematics and Industrial Engineering, École Polytechnique de Montréal for his support in statistical analysis. Thanks also due to Manon Leduc and Émilie Charbonneau for their assistance in the laboratory.

5.2.7 Literature cited

1. Adriano DC. (2001). *Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals*, 2nd edition. New York, Springer-Verlag.
2. Sauvé S, Hendershot W, Allen HE. 2000. Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden and Organic Matter. *Environmental, Science and Technology* 34: 1125-1131.
3. Impellitteri CA, Saxe JK, Cochran M, Janssen GMCM and Allen HE. 2003. Predicting the Bioavailability of Copper and Zinc in Soils: Modeling the Partitioning of Potentially Bioavailable Copper and Zinc from Soil Solid to Soil Solution. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22: 1380-1386.
4. Temminghoff EJM, van de Zee SEATM, de Haan FAM. 1997. Copper Mobility in a Copper-Contaminated Sandy Soil as Affected by pH and Solid

- and Dissolved Organic Matter. *Environmental Science and Technology* 31: 1109-1115.
5. Peijnenburg WJGM, Baerselman R, de Groot A, Jager T, Posthuma L and van Veen R. 1999. Relating Environmental Availability to Bioavailability: Soil-Type Dependent Metal Accumulation in the Oligochaete *Eisenia andrei*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 44: 294-310.
 6. Maiz I, Arambarri I, Garcia R, Millan E. 2000. Evaluation of Heavy Metal Availabaility in Polluted Soils by Two Sequential Extraction Procedures Using Factor Analysis. *Environmental Pollution* 110: 3-9.
 7. Rhoads FM, Olson SM, Manning A. 1989. Copper Toxicity in Tomato Plants. *Journal of Environmental Quality* 18: 195-197.
 8. Alva AK, Huang, B, Paramasivam S. 2000. Soil pH Affects Copper Fractionation and Phytotoxicity. *Soil Science Society of America Journal* 64: 955-962.
 9. Ma WC. 1984. Sublethal Toxic Effects of Copper on Growth, Reproduction and Litter Breakdown Activity in the Earthworm *Lumbricus rubellus*, with Observations on the Influence of Temperature and Soil pH. *Environmental Pollution* 33:207-219.
 10. Boyd W, Williams PL. 2003. Availability of Metals to the Nematode *Caenorhabditis Elegans* Toxicity Based on Total Concentrations in Soil and Extracted Fractions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22: 1100-1106.

11. Lock K, Janssen CR. 2001. Test designs to assess the influence of soil characteristics on the toxicity of copper and lead to the Oligochaete *Enchytraeus albidus*, *Ecotoxicology* 10, 137-144.
12. Scott-Fordsmand JJ, Weeks JM, Hopkin SP. 2000. Importance of Contamination History for Understanding Toxicity of Copper to Earthworm *Eisenia Fetida* (Oligochaeta:annelida), using Neutral-red Retention Assay." *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 1774-1780.
13. Lock K, Janssen CR. 2003. Influence of Ageing on Copper Bioavailability in Soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22: 1162-1166.
14. Han FX, Banin A, Triplett GB. 2001. Redistribution of Heavy Metals in Arid-zone Soils under a Wetting-drying Soil Moisture Regime. *Soil Science* 166: 18-28.
15. Tom-Petersen A, Hansen HCB, Nybroe O. 2004. Time and Moisture Effects on Total and Bioavailable Copper in Soil Water Extracts. *Journal of Environmental Quality* 33: 505-512.
16. American Society Testing and Materials. 2000. *Annual Book of ASTM Standards*, Vol 04.08. Philadelphia. PA, USA.
17. Agriculture and Agri-Food Canada. The Canadian System of Soil Classification 3rd ed. publication #1646.187 pp.
18. StatSoft, Inc. *STATISTICA for Windows* (Computer program manual). 1997. StatSoft, Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa, OK, USA, 74104.

19. Pedersen MB, Kjaer C and Elmegaard N. 2000. Toxicity and Bioaccumulation of Copper to Black Bindweed (*Fallopia convulvulus*) in Relation to Bioavailability and the Age of Soil Contamination. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 39: 431-439.
20. Kennette D, Hendershot W, Tomlin A, Sauvé S. 2002. Uptake of trace metals by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils. *Applied Soil Ecology* 19: 191-198.
21. Balasoïu CF, Zagury GJ, Deschênes L. 2001. Partitionning and speciation of chromium, copper and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition. *The Science of the Total Environment* 280: 239-255.
22. Lock K, Janssen CR. 2003. Influence of ageing on zinc bioavailability in soils. *Environmental Pollution* 126: 371-374.
23. Karam. 1993. Chemical properties of organic soils. *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Lewis Publishers. Boca Raton. 459-471.
24. Chapman. 1965 Cation-exchange capacity. In Black CA ed, *Methods of Soils Analysis*, Part 2-Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy inc. Publisher. Madison, Wisconsin, USA, pp 891-901.
25. American Public Health Association, American Water Works Assn, and Water Environment Federation. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition. Franson MH ed. Washington DC: 5-15.

26. Esnaola MV, Millan E. 1998. Evaluation of Heavy Metal Lability in Polluted Soils by a Cation Exchange Batch Procedure. *Environmental Pollution* 99: 79-86.
27. Lindsay WL, Norvell WA. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42: 428.
28. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. 2003. Détermination de la toxicité létale avec le ver de terre (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*). M.A. 500-VTL 1.0. Ministère de l'Environnement, Gouvernement du Québec, Québec, QC, Canada.
29. Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. 2000. Détermination de la germination et de la croissance avec les semences d'orge *Hordeum vulgare*. M.A. 500-G.C.1.0. Ministère de l'Environnement, Gouvernement du Québec, Québec, QC, Canada.
30. Bliss CL. 1957. Some principles of bioassay. *Am. Sci.* 45: 449-466.
31. Lehmann RG, Harter RD. 1984. Assessment of copper bond strength by desorption kinetics. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48: 769-772.
32. Schalscha EG, Morales M, Vergara I, Chang AC. 1982. Chemical fractionation of heavy metals in waste-affected soils. *Journal Water Pollution Control Federation.* 54: 175-180.
33. O'Connor GA. 1988. Use and misuse of the DTPA test. *Journal of Environmental Quality* 17:715-718.

34. Janssen RPT, Peijnenburg WJGM, Posthuma L, Van den Hoop MAGT. 1997. Equilibrium Partitioning of Heavy Metals in Dutch Field Soils. I. Relationship between Metal Partitioning Coefficients and Soil Characteristics. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 2470-2478.
35. Obrador A, Rico MI, Mingot JJ, Alvarez JM. 1997. Metal Mobility and Potential Bioavailability in Organic Matter-Rich Soil-Sludge Mixtures: Effect of Soil Type and Contact Time. *The Science of the Total Environment* 206: 117-126.
36. Bartlett R, James B. 1980. Studying dried, stored samples- Some pitfalls. *Soil Science Society of America Journal*. 44: 721-724.
37. Sanders JR. 1982. The effect of pH upon the copper and cupric ion concentrations in soil solutions. *Journal of Soil Science* 33: 679-689.
38. Brun LA, Maillet J, Richarte J, Herrmann P, Remy JC. 1998. Relationship between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environmental Pollution* 102: 121-161.
39. Aquaterra Environmental, and ESG International Inc. 2000. *Assessment of the Biological Test Methods for Terrestrial Plants and Soil Invertebrates: Metals*. Final Report prepared for the Method Development and Application Section, Environ.Technol.Centre. Environment Canada:140 p.
40. Smit CE, van Gestel CAM. 1998. Effects of Soil Type, Percolation and Ageing on Bioaccumulation and Toxicity of Zinc for the Springtail *Folsomia candida*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 1132-1141.

CHAPITRE 6 – INFLUENCE DES CARACTÉRISTIQUES DES SOLS SUR LE POTENTIEL ÉCOTOXIQUE DU CUIVRE EN ANALYSE DU CYCLE DE VIE

Le chapitre 6 permet de mettre en application les résultats expérimentaux obtenus au chapitre 5 en regard de la problématique de la caractérisation de l'impact écotoxique des métaux dans les sols en Évaluation des Impacts du Cycle de Vie (ÉICV) exprimée au chapitre 1. La méthodologie employée consiste à estimer les facteurs de caractérisation du cuivre pour deux écozones canadiennes différentes afin de vérifier la différence entre ceux-ci. Les écozones canadiennes sont des divisions géographiques basées sur plusieurs paramètres biophysiques dont les types de sol dominants.

6.1 Introduction

Dans le contexte de l'ACV, afin d'estimer le potentiel écotoxique associé à l'émission environnementale d'une substance i , la charge émise (M_i) est multipliée par un facteur de caractérisation (FC_i) qui considère les éléments suivants : le *sort* du contaminant dans les différents compartiments et l'*exposition* des récepteurs à la substance toxique (F_i), ainsi que l'*effet* de ce contaminant sur les récepteurs (E_i) (Jolliet *et al.*, 1996).

La plupart des méthodes actuelles utilisées en ACV pour déterminer le *sort* ou la distribution des métaux dans les différents compartiments emploient des coefficients de partition basés sur des valeurs expérimentales moyennes (Pennington *et al.*, 2003; Huijbregts *et al.*, 2000a; Hauschild et Wenzel, 1997). Or, il est reconnu que le coefficient de partition sol/eau des métaux varie largement selon les propriétés des sols, principalement le pH et la teneur en matière organique (Sauvé *et al.*, 2000).

Il est également connu que la masse totale de métal retrouvée dans un sol ($M^n * F^{nsoil}$) est un mauvais indicateur du potentiel toxique de celui-ci. Seule une fraction de cette masse, appelée fraction biodisponible, variable selon les propriétés des sols, peut atteindre le récepteur et générer une réponse toxique (Lock et Janssen, 2001d; 2001e).

Enfin, pour pallier au manque de données écotoxicologiques qui représentent l'écosystème terrestre ainsi qu'à la problématique de la biodisponibilité, certaines méthodes, telle qu'IMPACT 2002, font l'utilisation de données aquatiques dans le développement du facteur d'*effet* (E) associé à l'écotoxicité terrestre (Hauschild et Wenzel, 1997; Pennington *et al.*, 2003). En comparant ce facteur d'effet à la concentration en métal dans la fraction d'eau interstitielle des sols, les facteurs de caractérisation entraînent une incertitude inconnue en ce qui concerne la représentativité environnementale de l'évaluation de l'impact toxique (van Beelen *et al.*, 2003).

À l'aide des résultats expérimentaux obtenus dans le chapitre 4, un facteur de caractérisation du potentiel écotoxique du cuivre variable selon les caractéristiques du sol peut être calculé et comparé au facteur actuellement utilisé dans la méthode IMPACT 2002+.

Le but visé dans ce chapitre est d'évaluer l'influence des caractéristiques des sols sur le facteur de caractérisation du cuivre, et, par conséquent, sur le potentiel toxique associé à ce métal dans le sol.

6.2 Méthodologie

6.2.1 Facteurs de caractérisation de l'impact écotoxique et scénarios

Le facteur de caractérisation (FC) est spécifique à chaque substance i et exprime la contribution de celle-ci à un impact. Le facteur de caractérisation associé à l'impact « écotoxicité » est le produit d'un facteur de sort et exposition (FF) et d'un facteur d'effet (EF) :

$$FC_i = EF_i * FF_i$$

6-1

Afin d'évaluer l'influence des caractéristiques des sols sur le facteur de caractérisation du cuivre, les facteurs de sort et exposition et les facteurs d'effet ont été modélisés pour deux écozones canadiennes selon deux scénarios :

- 1) Le premier scénario consiste à intégrer les caractéristiques des zones géographiques dans le facteur de sort et exposition sans toutefois inclure une dépendance du coefficient de partition (K_d) aux propriétés des sols. Le facteur d'effet n'est pas, lui non plus, modifié en fonction des propriétés des sols.

- 2) Le second scénario consiste, cette fois, à intégrer un K_d et un facteur d'effet spécifiques aux sols étudiés basés sur les résultats du chapitre 4.

Les deux écozones canadiennes ont été choisies en fonction de la différence des propriétés de leurs sols (voir tableau 6.1).

6.2.2 Développement du facteur de sort et d'exposition (FF)

Les facteurs de sort et d'exposition sont développés à l'aide du modèle multi compartiments IMPACT 2002 (version a-spatiale) pour les deux écozones canadiennes suivantes : les Prairies et le Bouclier boréal.

Le modèle IMPACT 2002 (Pennington *et al.*, 2003) est un modèle multi compartiments très récent, reconnu par la communauté scientifique et facile à adapter (De Koning *et al.*, 2002).

Le tableau 6.1 indique les caractéristiques géographiques associées aux deux écozones terrestres choisies. Tous ces paramètres entrent dans la modélisation du sort du cuivre dans les sols pour les deux scénarios (c.f. section 2.1.3).

Tableau 6.1: Caractéristiques géographiques associés aux Écozones étudiées

Paramètres géographiques	unités	Écozones		Sources
		Prairies	Bouclier boréal	
Précipitations				
Taux de précipitations	mm/an	404	825	
Débit de cours d'eau	m ³ /s	117	3183	
détourné		(irrigation)	(barrages)	Statistiques Canada,

Eau souterraine utilisée pour agriculture	m ³ /an	4 636	--	2000
Ruissellement	mm/an	25	400	Atlas du Canada
Érosion des sols	t/ha/an	16	3	
Évapotranspiration (méthode PT)	mm	600	502	Environnement Canada ¹²
Sol				
Surface de sols	km ²	4.54E05	1.62E06	Statistiques Canada
Couverture végétale	%	94,6	85,6	
Couverture pavée	%	0,23	0,01	
Principal type de sol		chermozem	podzol hummo-ferrique	FAO; Agriculture and Agri-Food Canada
pH		7,5	5,5	Agri-Food Canada
Matière organique	%	10-13	5	
argile	%	25	5	
Eau de surface				
pH		7,5	6	Ministère environ. Saskatchewan; MENV
Température	°C	2.9	0.7	Environ. Canada ¹²
Surface	m ²	1.1 E 04	3.2 E 05	Statistiques Canada
Air				
Température	°C	2,9	0,7	Environ. Canada ¹²
Advection				
Débit d'eau entrant	m ³ /s	105	5980	Atlas Canada
Débit d'eau sortant	m ³ /s	700	16 907	

¹² Marshall et Shut, 1999

air	m ³ /h	1.64 E11	5.85 E12	Statistiques Canada
-----	-------------------	----------	----------	---------------------

La variation du facteur de sort et d'exposition entre les deux scénarios ne sera causée que par la variabilité du coefficient de partition. Le K_d influence le temps de résidence des métaux dans les sols et, par conséquent, l'exposition des récepteurs de l'écosystème terrestre au cuivre.

Le K_d utilisé pour le premier scénario (977 L/kg) est une moyenne d'un groupe de données expérimentales prélevées sur 11 sols américains tel qu'utilisé actuellement dans IMPACT 2002 (Buchter *et al.*, 1989), alors que les modifications apportées au modèle pour le second scénario se résument en une intégration des caractéristiques du sol dans le coefficient de partition sol/eau (K_d).

La corrélation obtenue dans le chapitre précédent est utilisée pour le scénario 2:

$$\log K_d = -6.386 + 1.288 \text{ pH} + 0.154 \% \text{MO} + 0.019 \% \text{argile} - 0.0120 \text{ pH } \% \text{MO}$$

6-2

$$r^2 = 0,965$$

Où $K_d = \frac{\text{concentration de cuivre dans l'extrait aqueux}}{\text{concentration totale de cuivre dans le sol}}$

%MO: teneur en matière organique

6.2.3 Développement du facteur d'effet (EF)

La méthode utilisée pour développer le facteur d'effet du cuivre est la méthode AMI (Assessment of Median Impact) (Payet et Jolliet, 2003). Cette méthode nécessite au moins trois valeurs toxicologiques sous forme de EC_{50} pour 3 espèces différentes afin

de calculer la HC₅₀ de la substance, c'est-à-dire la moyenne géométrique des valeurs associée à 50% d'espèces potentiellement affectées (PAF) (c.f. section 2.1.3).

Pour le scénario 1, la valeur de la HC₅₀ terrestre (mg/kg) correspond à la HC₅₀ associée à l'écosystème aquatique (0,026 mg/L) multipliée par le coefficient de distribution K_d (977 L/kg) comme l'indique l'équation suivante :

$$HC_{50\text{ terr}} = \frac{HC_{50\text{ aqua}} (K_d + \frac{f_e}{\rho_s})}{6-3}$$

Où f_e : fraction volumique d'eau dans le sol (l/l)

ρ_s : masse volumique du sol (1,5 kg/l)

Les valeurs HC₅₀ et K_d se retrouvent telles quelles dans la version de IMPACT 2002+ actuellement disponible (Pennington *et al.*, 2003).

Le facteur d'effet du scénario 2 a été développé à partir de données écotoxicologiques terrestres et a intégré l'influence des propriétés des sols sur la réponse écotoxicologique. Les relations développées au chapitre précédent pour l'orge et le ver de compost (6-4 et 6-5) ainsi qu'une relation tirée de la littérature pour une troisième espèce (6-6) ont été utilisées à cet effet. L'élongation des racines a été choisie plutôt que l'élongation du feuillage en raison d'une meilleure explication de la variabilité de la réponse avec la régression développée ainsi que de la plus grande sensibilité du paramètre.

Élongation des racines de l'orge¹³ =

$$2,857 \log Cu - 0,773 \text{ pH} - 0,014 \% \text{ matière organique} - 0,009 \% \text{ argile} + 1,217$$

6-4

¹³ exprimés en valeur probit

Mortalité de *Eisenia fetida*¹³=

$$2,683 \log \text{Cu} - 0,819 \text{ pH} - 0,041 \% \text{matière organique} - 0,020 \% \text{argile} + 2,078$$

6-5

Tiré de Lock and Janssen (2003):

$$\text{LC}_{50} (14\text{j}) \text{ } E. \text{ albidus} = - 12,8 \text{ CEC} - 0,85 \text{ pH} + 8,46 \text{ CEC} * \text{pH} + 117$$

6-6

Afin de calculer les EC_{50} de l'orge et du ver de compost, la valeur « probit » 5 remplace l'effet correspondant à 50% dans les équations 6-4 et 6-5. Les transformations mathématiques log-probit sont souvent utilisées en écotoxicologie pour étudier les courbes dose-réponse (Bliss, 1957). Puis, la moyenne géométrique des trois valeurs de EC_{50} , appelée HC_{50} , est utilisée afin de déterminer un facteur d'effet exprimé en $\text{PDF m}^2\text{kg}^{-1}$, ainsi que des intervalles de confiance associés (exemple de calcul en annexe VI).

6.3 Résultats et discussion

6.3.1 Facteurs de sort et exposition

Premièrement, les valeurs de K_d calculées pour les deux écozones et qui serviront au développement du facteur de sort et d'exposition (FF) sont présentées dans le tableau 6.2. Les valeurs sont dans la gamme de coefficients de partition retrouvés dans la littérature qui varient de 6,8 à 82 850 L/kg (Sauvé *et al.*, 2000). Par ailleurs, la valeur du coefficient de distribution du Cu dans le sol du Bouclier boréal semble faible comparativement à des valeurs mesurées dans des sols semblables qui varient entre 35 et 520 (de Groot *et al.*, 1998). À partir des corrélations trouvées dans la littérature, des

valeurs pour les Prairies et le Bouclier Boréal ont été calculées : respectivement, 1251 et 225 L/kg (Janssen *et al.*, 1997a), 3166 et 207 L/kg (Impellitteri *et al.*, 2003), et 5563 et 1825 L/kg (Sauvé *et al.*, 2000). Les résultats montrent que le K_d des Prairies est toujours plus faible que celui du Bouclier boréal. De plus, il semble que le premier soit surestimé tandis que le second serait sous-estimé.

Tableau 6.2: Mobilité du cuivre selon les zones géographiques

	K_d (L/kg)	
	Scénario 1	Scénario 2
Prairies	977	6918 [2291 – 20417] ^a
Bouclier boréal	977	16 [5-50] ^a

^a : Les valeurs entre crochets représentent l'intervalle de confiance à 95% obtenu avec l'équation de régression développée à l'aide de *Statistica* (équation 5-1).

Ensuite, les modélisations d'une émission d'un kilogramme de cuivre dans l'air ont été effectuées avec IMPACT 2002. Les facteurs de sort et exposition intégrés dans le temps et l'espace sont présentés au tableau 6.3. Ces facteurs correspondent au temps de résidence du cuivre dans les sols.

Tableau 6.3: Résultats de la modélisation avec IMPACT 2002

	ECOZONES			
	Prairies		Bouclier boréal	
	Scénario 1	Scénario 2	Scénario 1	Scénario 2
FF (an)	65.5	82.7	33.0	0.884

Les résultats montrent que le Bouclier boréal retient moins longtemps le cuivre dans les sols que les Prairies selon les scénarios 1 et 2. En effet, un facteur de sort et exposition (FF) de 65,5 ans pour les Prairies et 33 ans pour le Bouclier boréal est

trouvé dans le scénario 1 et des FF de 82,7 ans et de moins d'un an sont trouvés dans le scénario 2. Le régime des eaux d'infiltration provenant des pluies influence les résultats des 2 scénarios. Le climat sec des Prairies entraîne un très faible débit d'eau d'infiltration. Par ailleurs, la différence entre les FF des deux écozones est plus importante dans le scénario 2, i.e. en considérant un coefficient de partition (K_d) spécifique aux principaux sols de surface retrouvés dans ces régions. Effectivement, la différence entre le facteur de sort des deux régions est accentuée de 2 ordres de grandeur en passant au deuxième scénario. Le Bouclier boréal, constitué de sols plus acides et moins argileux que ceux des Prairies, retient moins le métal dans les couches supérieures des sols. La variabilité des facteurs de sort et exposition a été étudiée antérieurement. À des fins de comparaisons, une étude réalisée avec le modèle USES-LCA a conclu que les facteurs de sort et d'exposition pouvaient varier d'un facteur 2 à 10 selon que les paramètres de l'Europe, des États-Unis ou de l'Australie étaient utilisés (Huijbregts *et al.*, 2003). Le sort de 375 substances a été modélisé afin de comparer l'influence de l'intégration des paramètres géographiques dans la modélisation multi compartiments. Aucun détail sur les substances n'est disponible dans la publication.

Une étude similaire réalisée avec le modèle CalTOX de l'USEPA a également mis en évidence l'importance de la variabilité des propriétés physico-chimiques des substances dont le K_d devant l'influence des paramètres géographiques (Hertwich *et al.*, 1999). Alors, qu'ici le K_d est considéré une variable physico-chimique et géographique. L'étude de Hertwich *et al.* (1999) a été réalisée pour des composés organiques uniquement (236 substances).

Par ailleurs, l'importance de l'impact du cuivre sur l'environnement terrestre ne peut se baser uniquement sur la base du facteur de sort et d'exposition. En effet, quoique présent moins longtemps dans les couches superficielles des sols du Bouclier boréal sur un temps d'intégration infini, le cuivre présent est plus mobile, devenant ainsi plus

disponible pour les organismes. Il est donc important d'inclure également un facteur d'effet spécifique aux sols afin de comparer l'influence du contexte géographique sur l'impact du cuivre sur l'écosystème terrestre.

Il est à noter que pour être consistant avec une modification du modèle en fonction des caractéristiques géographiques des zones étudiées, il aurait également fallu intégrer l'influence des paramètres géographiques sur les coefficients de partition eau/sédiments et eau/matière en suspension, ce qui n'était pas prévu pour cette étude.

6.3.2 Facteurs d'effet

Les facteurs d'effet du scénario 1 tels qu'utilisés actuellement dans IMPACT 2002 sont extrapolés à partir des facteurs d'effet sur l'écosystème aquatique et du coefficient de partition sol/eau (K_d). Les valeurs fournies dans la méthode actuelle sont les suivantes : $HC_{50\text{aqua}} = 0,026 \text{ mg/L}$ et $K_d = 977 \text{ L/kg}$.

Pour le scénario 2, les réponses toxiques équivalentes pour chacune des écozones sont calculées selon la méthode détaillée en 6.2. Les données issues des régressions développées expérimentalement donnent des valeurs de 3061 mg Cu/kg (Prairies) et 741 mgCu/kg (Bouclier boréal) pour l'inhibition de la croissance des racines de l'orge (*Hordeum vulgare*), ainsi que des LC_{50} de 5503 mg Cu/kg (Prairies) et de 864 mg/kg (Bouclier boréal) pour la mortalité du ver de compost (*Eisenia fetida*). Ces résultats ainsi que la moyenne géométrique (HC_{50}) sont présentés dans le tableau 6.4.

Tableau 6.4: Réponse toxique du cuivre (mg Cu/kg)

	ECOZONES	
	Prairies	Bouclier boréal
$EC_{50} \text{ } H. \text{ vulgare}$	3061	741

LC ₅₀ <i>E. fetida</i>	5503	864
LC ₅₀ <i>E. albidus</i>	1938	580
HC ₅₀ [CI ₉₅]	3196 [2388-4277] ^a	719 [643 - 804] ^a

^a : intervalle de confiance à 95% (c.f. annexe VI pour calculs)

Ces résultats montrent que les valeurs de EC₅₀ sont toujours plus élevées dans les Prairies que dans le Bouclier boréal compte tenu du contenu en argile et du pH plus élevés dans les Prairies. Ces valeurs concordent avec les valeurs trouvées au chapitre 4 pour des sols similaires. L'ordre de sensibilité des espèces est demeuré le même dans les deux Écozones; *E. fetida* est toujours l'espèce la moins sensible.

Des facteurs d'effet peuvent être calculés avec la méthode AMI à partir des données de HC₅₀. Ces facteurs d'effet présentés au tableau 6.5 sont exprimés sous la forme d'une fraction des espèces potentiellement disparues intégrée dans l'espace par kilogramme de cuivre retrouvé dans les sols.

Tableau 6.5: Facteurs d'effet du cuivre développés avec la méthode AMI

	ECOZONES			
	Prairies		Bouclier boréal	
	Scénario 1	Scénario 2	Scénario 1	Scénario 2
	Scénario 1	Scénario 2	Scénario 1	Scénario 2
EF	6,4	0,05	6,4	0,23
(PDF.m²kg⁻¹)	[3,2 – 9,7] ^a	[0,04-0,07] ^a	[3,2-9,7] ^a	[0,17-0,31] ^a

^a : intervalle de confiance à 95%

Selon le scénario 2, le facteur d'effet du cuivre sur l'écosystème terrestre des Prairies est moins important que celui associé au Bouclier boréal par un facteur 4. De plus, les facteurs d'effet sont significativement différents ($p < 0,05$). Le Bouclier boréal est effectivement un environnement terrestre sensible, puisque les podzols qui le

caractérisent sont des sols faiblement acides au contenu en argile très faible. Le cuivre est ainsi plus disponible pour les organismes vivants.

Les facteurs d'effet des scénarios 1 et 2 ne seront pas comparés étant donné que leur différence repose sur 2 variables : la spécificité géographique de l'effet, mais également le changement de méthodologie pour obtenir les facteurs d'effet terrestre. En effet, les facteurs d'effet provenant de la méthode IMPACT 2002+ (scénario1) sont issus de données toxicologiques associées à des espèces aquatiques plutôt que terrestres tel qu'utilisé dans le scénario 2.

6.3.3 *Impact toxicologique sur l'écosystème terrestre*

Considérant l'épandage de 1 kg de cuivre (Cu) sous la forme de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (fongicide), le potentiel d'impact écotoxique terrestre du cuivre (S_{Cu}) peut être calculé par la formule suivante :

$$S_i^{n,m} = EF_i^m FF_i^{n,m} M_i^n$$

Où i : substance (cuivre)

n : air

m : sol

EF : facteur d'effet (PDF. m^2/kg)

FF : facteur de sort et d'exposition (an)

M : masse de cuivre émise (kg)

Par conséquent, les calculs pour les deux scénarios sont effectués à partir des valeurs de FF et EF retrouvés dans les tableaux 6.3 et 6.5. Les valeurs sont reprises et les calculs du score (S) sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 6.6 : Calcul du potentiel d'impact toxique du cuivre sur l'écosystème terrestre

Ecozone	Prairies		Bouclier boréal	
Scénario	1	2	1	2
FF (an)	65,5	82,7	33,0	0,884
EF (PDF.m ² kg ⁻¹)	6,40	0,052	6,40	0,232
M (kg)	1	1	1	1
S (PDF.m ² an)	4,19E+02	4.30	2,11E+02	0.195

La figure 6.1 illustre les résultats obtenus dans le tableau précédent. Des différences significatives sont observées entre les potentiels d'impact selon les écozones et selon les scénarios.

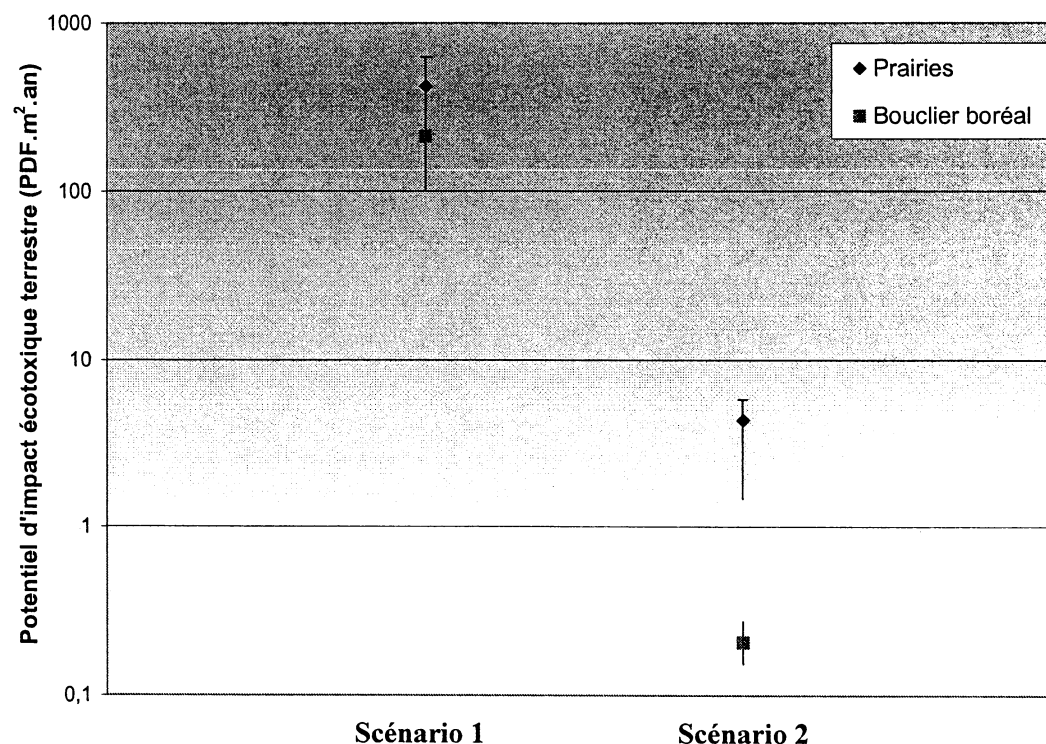


Figure 6.1 : Potentiel d'impact écotoxique terrestre associé à une émission de 1 kg de cuivre à l'atmosphère

Selon le scénario 1, les Prairies subissent un potentiel d'impact écotoxique terrestre 2 fois plus important que le Bouclier boréal. Ce facteur est principalement explicable par le faible lessivage des sols par les eaux d'infiltration. Cette différence est comparable à celle trouvée par Huijbregts *et al.* (2003).

Selon le scénario 2, la tendance est la même, c'est-à-dire que les sols des Prairies possèdent un potentiel d'impact supérieur à ceux du Bouclier, mais cette fois-ci de plus d'un ordre de grandeur, plus précisément d'un facteur 22. La spécificité géographique combinée du coefficient de partition ainsi que du facteur d'effet entraîne une différence plus importante entre les deux écozones. Le facteur de sort augmente

considérablement le potentiel d'impact des Prairies, alors que le facteur d'effet associé aux sols du Bouclier boréal est plus grand (sols plus sensibles). Dans ce cas-ci, la forte contribution du facteur de sort est causée par l'importante différence entre les coefficients de partition (K_d) des écozones ainsi qu'entre leurs débits d'eau d'infiltration.

Le K_d est influencé par le pH, le contenu en argile et en matière organique des sols, donc par les valeurs moyennes utilisées pour caractériser les sols des écozones. Or, ces valeurs varient en fonction d'une stratification beaucoup plus complexe des sols. Aussi, le K_d est fortement influencé par le pH. L'équation (1) est basée sur l'étude effectuée au chapitre 4. Dans cette étude, du $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a été utilisé pour augmenter le pH, alors que dans la nature, le CaCO_3 est l'agent alcalin le plus fréquemment rencontré (Adriano, 2001). En ce sens, le K_d des Prairies a pu être surestimé ou celui du Bouclier boréal a pu être sous-estimé par la régression établie au chapitre 4.

Les scénarios 1 et 2 ne peuvent être comparés étant donné les méthodologies différentes utilisées pour le calcul des facteurs d'effet tel qu'expliqué à la section 6.3.2.

L'influence de la spécificité géographique sur le sort des métaux en ACV est discutée dans Hellweg *et al.* (2004). Une méthode de pondération des composantes influençant le temps de résidence dans les sols est suggérée incluant la perméabilité de la surface du sol, la présence de macro-pores, l'adsorption (pH + composantes du sol), la vitesse de l'eau de ruissellement et la distance à la nappe d'eau souterraine. Tous ces paramètres sont inclus dans IMPACT 2002. En modifiant selon les types de sol, la porosité, le coefficient d'adsorption et la distance à l'aquifère, IMPACT 2002 peut quantifier ce temps de résidence spécifique. Évidemment, l'approche de pondération permet de fonctionner avec un nombre limité de données.

Finalement, les résultats de cette étude montrent que la différenciation géographique du milieu récepteur influence le potentiel d'impact dans le contexte de l'ACV. Des conclusions semblables ont été établies dans des études antérieures portant sur la toxicité humaine, l'acidification, l'eutrophisation et le smog photochimique (Krewitt *et al.*, 2001; Nigge, 2001). Par ailleurs, les publications disponibles à ce jour portant sur l'impact de la différenciation spatiale sur le potentiel écotoxique en ACV concernent seulement le devenir (sort) des contaminants (Huijbregts *et al.*, 2003; Hertwich *et al.*, 2000; Schulze *et al.*, 2001) et non l'exposition ou l'effet sur le milieu récepteur.

6.4 Conclusion

Les variables géographiques influencent le calcul du facteur de sort et exposition (FF) ainsi que le facteur d'effet (EF) du cuivre. Le sort du cuivre dans les sols du Bouclier boréal indique un temps de résidence plus faible que dans les sols des Prairies. Le faible coefficient de partition de même que les grandes quantités d'eau infiltrée sont responsables de ce résultat. D'autre part, l'effet du cuivre dans les sols du Bouclier est beaucoup plus marqué, étant donné les conditions de pH, matière organique et argile qui favorisent la biodisponibilité.

Globalement, le potentiel d'impact est plus important dans les Prairies, conclusion grandement affectée par la différence entre les facteurs de sort, principalement influencé par le coefficient de partition sol/eau (K_d). Ce résultat signifie qu'une accumulation du cuivre jusqu'à des concentrations importantes, mais peu biodisponibles, peut avoir lieu dans les sols des Prairies et peut constituer un potentiel de relargage important sur une période infinie.

Cette étude démontre que l'intégration de l'influence des propriétés des sols dans l'évaluation du potentiel écotoxique terrestre dans le contexte de l'ACV peut entraîner

une différence significative dans les résultats. Cette modification à la méthodologie d'évaluation de l'impact écotoxique améliore la spécificité géographique de l'ACV accroissant donc l'applicabilité de la méthode pour les métaux.

Le paramètre « cinétique » de la mobilité et de la toxicité n'a pu être intégré dans la méthode IMPACT 2002+, puisque aucune relation mathématique n'a pu être développée au cours des expérimentations (section 4) et peu de différences significatives ont été observées avant et après le vieillissement.

Par ailleurs, d'autres problématiques associées au calcul de l'écotoxicité terrestre en ACV restent à évaluer, entre autres, la linéarité de l'effet. En effet, la façon de calculer le potentiel écotoxique en ACV ne tient pas compte de l'évolution dynamique des concentrations de contaminants dans les différents compartiments de l'environnement. Une importante concentration de contaminants rapidement éliminée aura le même impact qu'une faible concentration demeurant très longtemps dans le compartiment; même si cette concentration se situe sous la valeur seuil sans effet ou avec effet bénéfique (métal essentiel). Toutefois, l'ACV est un outil relatif qui permet d'estimer un impact potentiel et non un risque réel. En ce sens, l'évaluation des impacts du cycle de vie est un outil d'évaluation sans seuil et linéaire, considérant une charge environnementale qui s'additionne à un potentiel toxique déjà présent.

CHAPITRE 7 – DISCUSSION GÉNÉRALE

De plus en plus, les méthodes d'évaluation des impacts du cycle de vie tendent à intégrer la différenciation spatiale pour certaines catégories d'impacts (Pennington *et al.*, 2003; Bare *et al.*, 2002) en utilisant des modèles régionaux (IMPACT 2002, RAINS-LCA, ASTRAP). Quoiqu'il en soit, l'intégration du contexte géographique dans l'évaluation du potentiel écotoxique des métaux sur les organismes terrestres demeure peu développée (Heijungs *et al.*, 2004). Cette problématique est liée à l'évaluation du sort, de l'exposition et de l'effet des métaux sur les récepteurs.

Une revue de la littérature a permis de mettre en lumière des corrélations déjà existantes en ce qui a trait à une variable importante de la modélisation du sort : le coefficient de partition sol/eau (K_d) (Sauvé *et al.*, 2000; Janssen *et al.*, 1997a; Impellitteri *et al.*, 2003). Par ailleurs, la problématique de l'influence des propriétés des sols sur l'écotoxicité terrestre des métaux peut être abordée de deux façons: soit par l'identification d'une fraction biodisponible qui cause un effet toxique chez les récepteurs terrestres (facteur d'exposition) ou par la pondération du facteur d'effet en fonction des propriétés des sols. La première option (exposition) permet de se mouler à l'approche utilisée pour la toxicité humaine et d'identifier une fraction biodisponible permettant d'évaluer la toxicité des métaux à des niveaux trophiques supérieurs. Par ailleurs, la seconde option permet de diminuer l'incertitude dans la relation entre le type de sols et l'effet toxique. Les deux options ont été évaluées dans la présente étude.

Tout d'abord, la littérature ne fait pas état d'un consensus à savoir quelle fraction est disponible pour l'ensemble des organismes terrestres. Par ailleurs, de nombreuses études ont lié la biodisponibilité et la toxicité du cuivre à la fraction soluble et échangeable, extraite par une solution saline neutre dans le cas de plantes, invertébrés

et micro-organismes (Lock et Janssen, 2003a; Kunito *et al.*, 1999; Brun *et al.*, 1998). Pour évaluer la seconde option, il a fallu effectuer une analyse statistique des données écotoxicologiques issues de la littérature. Le chapitre 4 présente les résultats de cette étude. L'analyse statistique a démontré que le pH, le contenu en matière organique et le contenu en argile influencent significativement les EC_{50} du bassin de données. Or, il est difficile d'affirmer que ces corrélations ne sont pas que circonstancielles, puisque plusieurs paramètres des tests varient à la fois (espèce, paramètre biologique, durée). De plus, pour une espèce donnée (*Eisenia fetida*) et un test donné (mortalité, 14 jours), il n'a pas été possible de trouver de relation significative entre les 15 données disponibles. Seule l'étude de Lock et Janssen (2001) permet de relier la réponse toxique d'une espèce (*E. albidus*) directement au pH et à la CEC. Afin d'établir des relations mathématiques entre les propriétés du sol et la réponse toxique de l'écosystème terrestre, une série de manipulations expérimentales est ainsi justifiée.

De plus, une autre problématique associée à l'évaluation du potentiel écotoxique en ACV est liée à la persistance des métaux dans l'environnement. Des études ont démontré la diminution de la mobilité et de l'écotoxicité associée à une contamination avec le temps (Strawn et Sparks, 1999; Lock et Janssen, 2003a). Or, l'effet écotoxique est évalué de façon linéaire en fonction de la concentration du sol intégrée dans le temps. Par ailleurs, l'intégration de l'influence du temps dans le contexte de l'ACV nécessiterait de connaître la cinétique de la diminution de mobilité et de la toxicité.

À la lumière de ces informations, une étude a été réalisée en laboratoire permettant d'identifier les effets du temps et des propriétés des sols sur l'écotoxicité du cuivre sur deux espèces différentes, *Hordeum vulgare* (orge) et *Eisenia fetida* (ver de terre). Les résultats des manipulations expérimentales sont présentés au chapitre 5.

Le pH a principalement influencé le fractionnement du cuivre dans les sols. Une augmentation du pH a contribué à diminuer la concentration en cuivre dissout

principalement par précipitation et augmentation de l'adsorption (Adriano, 2001). Une quantité de cuivre pu précipité due à la présence de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ dans les sols à pH 7.5. Par ailleurs, le contenu en matière organique et l'argile ont aussi contribué à la fixation du cuivre sur la matrice solide. Notamment, les sols faiblement acides (pH 5.5) ont montré une différence marquée entre le loam sablonneux A1 (72% du Cu_{TOT}) et les autres sols (B1 à E1 – 1-4% Cu_{TOT}). Par ailleurs, à pH 7.5, l'argile a dirigé la rétention de la phase solide et la DOC a accru sa solubilité. Des études antérieures ont également démontré l'influence de la DOC sur la mobilité du cuivre (Janssen *et al.*, 1997a).

L'utilisation d'agents extracteurs pour identifier le cuivre total et les fractions de cuivre dissout, dissout et échangeable, et dissout, échangeable et complexé à la matière organique a permis d'évaluer les meilleurs indicateurs de la toxicité du cuivre. Tout d'abord, la faible relation entre la toxicité et la concentration totale de cuivre a été mise en lumière comme dans plusieurs études antérieures (Boyd *et al.*, 2003; Lock et Janssen, 2003). Puis, le DTPA s'est également avéré un mauvais indicateur de la toxicité. L'inhibition de la croissance de l'orge et la mortalité du ver de compost a plutôt été positivement corrélée avec la fraction extraite à l'eau déionisée et la solution de CaCl_2 . La fraction dissoute et échangeable (extraite au CaCl_2) est celle qui a le mieux exprimé la toxicité ($r=0.6$). Des extraits de cuivre par des solutions salines diluées et neutres, telles que le CaCl_2 (0.01M), ont été corrélés à l'absorption du cuivre par les plantes (Brun *et al.*, 1998) et sa toxicité des invertébrés (Lock et Janssen, 2003a). Néanmoins, l'analyse des résidus montre deux groupes de données isolés. En fait, le cuivre extrait par le CaCl_2 n'a pu expliquer la toxicité au pH 5.5 ni au 7.5 pris séparément.

Des régressions directes entre les sols et la variabilité de la réponse toxique se sont avérées une meilleure approche, démontrant une variabilité expliquée de 75% pour l'inhibition de la croissance du feuillage chez *Hordeum vulgare*, 92% pour celle des

racines et 48% pour la mortalité de *Eisenia fetida*. De plus, l'analyse des résidus a montré une distribution uniforme autour de la droite moyenne. Il faut noter qu'un plus grand nombre de données était disponible pour cette analyse, puisque les réponses toxiques des dilutions de sols ont pu y être intégrées. L'augmentation du pH et l'augmentation du contenu en matière organique ont principalement contribué à la diminution de la réponse écotoxique. Le contenu en argile a aussi été un paramètre significatif diminuant l'écotoxicité. Des études antérieures ont démontré l'effet du pH sur la l'écotoxicité du cuivre (Ma *et al.*, 1984, Alva *et al.*, 2000), de même que l'effet de l'argile et de la matière organique (Boyd *et al.*, 2003 ; Lock et Janssen, 2001e).

Par ailleurs, les valeurs écotoxicologiques ont été généralement plus élevées que celles retrouvées dans la littérature, probablement à cause de la procédure de contamination. En effet, une étude portant sur l'effet toxique du zinc sur la reproduction de *Folsomia candida* a montré une différence d'un facteur 2 entre la EC_{50} mesurée dans un sol fraîchement contaminé avec un volume d'eau quatre fois supérieur au volume des pores du sol (Smit *et al.*, 1999). À titre d'exemple, une LC_{50} de 768 mg Cu/kg sur *E.fetida* et une EC_{50} de 686 mg Cu/kg pour l'inhibition de la croissance des racines de *H.vulgare* ont été observées par Aquaterra (2000) dans un sol artificiel (pH=6.1, 9%OM, 15% argile), alors que les données prédites par le modèle développé sont respectivement 1586 et 1160 mg Cu/kg.

Peu de différences significatives ont été trouvées entre les réponses toxiques avant et après le vieillissement simulé par une série de cycles mouillage-séchage. La procédure de contamination utilisée constituait déjà une sorte de vieillissement, comme mentionné précédemment (Smit *et al.*, 1999). Toutefois, les sols organiques ont montré une tendance à devenir moins toxiques alors que les sols pauvres en matières organiques se sont comportés de la façon contraire. Ceci peut être expliqué par deux mécanismes parallèles. D'abord, une diminution du DOC pouvant être expliquée par la minéralisation a pu forcer les complexes Cu-DOC à se dissocier en solution

(Sanders, 1982) et relarguer du Cu sous des formes plus toxiques. En ce sens, Tom-Petersen *et al.* (2004) ont observé une augmentation de la proportion de cuivre toxique pour *Pseudomonas fluorescens* retrouvée dans la fraction dissoute d'un loam sablonneux. D'autre part, le cuivre adsorbé électrostatiquement sur la matière organique peut se redistribuer sur la phase solide, par exemple en se complexant avec la matière organique, devenant moins labile. Une diminution de la fraction dissoute et échangeable avec le temps a été observée par Han *et al.* (2001). De plus, il a été observé que le cuivre s'adsorbait préférentiellement à la fraction oxydable du sol avec le temps (Han *et al.*, 2001; Obrador *et al.*, 1997).

Finalement, l'intégration des résultats expérimentaux dans le contexte de l'ACV a été réalisée avec la méthode IMPACT 2002+ dans le chapitre 6. L'influence de cette intégration a été évaluée par l'étude de 2 sols distincts issus du Bouclier boréal et des Prairies. De par leur contenu en argile ainsi que leur pH, les sols de l'écozone des Prairies sont significativement différents des sols du Bouclier canadien (tableau 5.1). Le calcul des potentiels d'impacts associés à une émission à l'air d'un kilogramme de Cu a révélé une différence d'un facteur 22 entre les deux écozones. Ceci montre que la différenciation spatiale peut influencer de façon importante les résultats de l'ACV. Des études antérieures portant sur d'autres impacts ont aussi souligné la pertinence de la différenciation spatiale (Nigge, 2001 ; Krewitt *et al.*, 2001 ; Schulze *et al.*, 2001). Dans la présente étude, les facteurs de sort et exposition (FF) ont beaucoup influencé les facteurs de caractérisation (FC) d'autant plus qu'il s'agit d'une exposition intégrée sur un temps infini. L'étude réalisée sur le sort des polluants dans le modèle multi compartiments USES-LCA montre une influence des paramètres géographiques d'un facteur 2 à 10 sur les facteurs de sort et exposition (Huibregts *et al.*, 2003). Dans le contexte de la présente étude, le coefficient de partition est une des principales variables qui a influencé le FF. Par ailleurs, les valeurs de K_d sont fortement dépendantes du pH. La précipitation qui a eu lieu à pH élevé a potentiellement contribué à une surestimation du K_d des Prairies et une sous-estimation du K_d du

Bouclier boréal. En effet, les valeurs de K_d ont été comparées à des valeurs issues de corrélations développées de la littérature. Des valeurs de 207 et 3166 L/kg ont été trouvées comparativement à des valeurs prédites de 16 et 6918 mg/L pour le Bouclier et les Prairies respectivement dans cette étude (Impellitteri *et al.*, 2003). Dans le même ordre d'idées, il est possible que la précipitation du cuivre ait influencé les facteurs d'effet trouvés pour les deux écozones. Les facteurs d'effet ont varié d'un facteur 4 entre les deux écozones.

La cinétique de mobilité et, potentiellement de la toxicité, n'a pu être intégrée dans le contexte de l'ACV. Par ailleurs, l'influence du temps n'est sûrement pas négligeable. À titre d'exemple, *Lumbricus terrestris* n'a subi aucun effet toxique à des concentrations de 3000 mg Cu/kg sur des sols réels contaminés en laboratoire (Kennette *et al.*, 2002), alors que la LC_{50} la plus élevée retrouvée parmi les données écotox de la littérature est 1200 mg/kg (Aquaterra, 2000).

Enfin, l'approche proposée pour relier l'influence des sols sur l'écotoxicité du cuivre a montré une influence lors de son application dans le cadre de l'ACV. Par ailleurs, cette méthode est seulement applicable à des sols contaminés à un niveau supérieur à 250 mg Cu/kg. L'utilisation des régressions établies dans la présente étude ne pourrait donc s'appliquer sans aucune autre validation à des sols déficients en cuivre. Dans cet ordre d'idées, plusieurs autres problématiques relatives à l'évaluation de l'impact écotoxique des métaux en ACV ont été identifiées par le groupe de travail sur les métaux et l'ACV, notamment l'intégration à l'infini du facteur de sort et exposition et la linéarité dans le calcul de l'effet (Heijungs *et al.*, 2004).

CHAPITRE 8 – CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

8.1 Conclusions générales

La présente étude avait pour but d'évaluer l'influence de l'intégration des caractéristiques des sols et de l'âge de la contamination sur l'évaluation de l'écotoxicité terrestre du cuivre en ACV.

Les conclusions suivantes peuvent être tirées en regard des objectifs établis pour la présente étude (c.f. section 1.2) :

- i) Le pH, le contenu en matière organique et le contenu en argile influencent la mobilité du cuivre dans les sols et son effet toxique observé sur la croissance de l'orge (*H. vulgare*) et la mortalité du ver de compost (*E. fetida*). Des régressions ont été développées afin d'expliquer ces effets. Le pH est le paramètre qui influence le plus la mobilité et la toxicité du cuivre dans les sols.
- ii) Le vieillissement des sols contaminés par le cuivre (sols pH7.5) suivant une série de cycles mouillage-séchage n'a pas démontré de tendance unique dans tous les types de sols. Une tendance vers une diminution de la toxicité et du contenu en cuivre dans la fraction dissoute et échangeable a été observée dans les sols organiques, alors que les sols pauvres en matière organique ont montré une tendance vers une augmentation de la toxicité après la période de vieillissement. Aucune relation en fonction du temps n'a, par ailleurs, pu être développée pour la mobilité du cuivre.
- iii) L'intégration de l'influence de la biodisponibilité sur la toxicité dans la méthode IMPACT 2002+ aurait pu se faire de deux façons : via les facteurs d'exposition (fraction potentiellement toxique) ou via des facteurs d'effet spécifiques aux types de sols. La fraction dissoute et échangeable (extraite

au CaCl_2 0.5 M) est la fraction de cuivre la mieux corrélée à la réponse toxique. Cependant, en comparant les coefficients de régression obtenus (explication de la variabilité), la seconde méthode a été privilégiée.

- iv) L'intégration des propriétés des sols à l'intérieur du calcul des facteurs de caractérisation du cuivre en ACV a démontré une différence significative entre les facteurs de caractérisation du cuivre associés aux différents types de sols. Une forte dominance du facteur de sort et exposition par rapport au facteur d'effet a été observée.

Les résultats obtenus dans la présente étude se limite à la gamme de propriétés étudiée, pH (5.5-7.5), matière organique (1-30%), argile (5-35%), concentration en cuivre (250- 6000 mgCu/kg sol), et aux espèces étudiées et effets mesurés, *H. vulgare* (croissance) et *E. fetida* (mortalité).

8.2 Recommandations

Les recommandations associées à la présente étude se séparent en trois thèmes :

1. influence des propriétés des sols sur la toxicité;
2. influence du temps sur la toxicité;
3. évaluation de l'écotoxicité terrestre des métaux en ACV.

Tout d'abord, considérant les résultats obtenus en laboratoire sur l'influence des types de sols sur la toxicité, les recommandations suivantes sont formulées.

- Étant donné la faible corrélation entre la mortalité de vers et les propriétés du sol, ainsi que la difficulté de réaliser ce test avec des métaux (les vers se coupent), d'autres tests sur les vers de compost pourraient être réalisés sur un paramètre plus sensible, comme l'évitement. De tels effets chroniques sont plus pertinents dans une approche à long terme comme l'ACV.

- Une validation des résultats avec des sols naturels représentatifs de grandes régions géographiques serait nécessaire à l'utilisation des régressions développées avec des sols artificiels.
- Une approche par couche de sol (propriétés différentes) pourrait être développée à partir des relations développées sur la mobilité.
- L'ajustement artificiel du pH ne représente pas nécessairement les composants acides ou basiques des sols naturels. Entre autres, il serait intéressant de vérifier l'influence de l'augmentation du pH avec du CaCO_3 .
- L'analyse systématique des EC_{50} des deux organismes dans tous les sols aurait permis de réaliser les analyses statistiques dans l'espace expérimental fixé au départ (contrôle d'une variable supplémentaire).
- Il serait intéressant d'étudier le lien entre l'accumulation de métal dans les tissus et la toxicité afin de caractériser le potentiel écotoxique associé aux organismes des niveaux trophiques supérieurs.

En ce qui concerne l'effet du vieillissement, il serait intéressant de :

- Étudier le vieillissement par extraction séquentielle, ce qui permettrait de connaître les redistributions sur les différentes composantes de la phase solide;
- Modéliser la spéciation chimique du cuivre en solution ce qui permettrait d'évaluer les changements encourus dans la phase soluble;
- Étudier le comportement des sols au pH 5.5 dans le temps;
- Étudier le vieillissement sur une plus longue période;
- Valider les résultats avec une contamination sur le terrain;
- Simuler un vieillissement suivant des cycles mouillage-séchage dans un réacteur en continu et récupérer le lixiviat, ce qui permettrait de mieux comprendre la cinétique du fractionnement.

Finalement, l'intégration des résultats dans le contexte de l'ACV permet de suggérer :

- l'utilisation de régressions linéaires reliant les propriétés des sols aux K_d et aux réponses toxiques dans l'évaluation du potentiel écotoxique;
- l'utilisation de données écotoxicologiques terrestres pour évaluer l'écotoxicité terrestre;
- la précaution dans l'utilisation de la méthode traditionnelle linéaire utilisée en ACV en présence de sols déficients en métaux essentiels;
- la modélisation dynamique de la concentration en métal dans l'environnement;
- l'étude de la variabilité du facteur de sort par rapport à la variabilité du facteur d'effet.

RÉFÉRENCES

ADRIANO, D.C. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals, 2nd edition. New York, Springer-Verlag, 866 pp.

AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA (1998). The Canadian System of Soil Classification, 3rd edition. Ottawa, publication #1646, 187 pp.

AINSWORTH, C.C., J.L. PILON, P.L. GASSMAN et W.G. VAN DER SLUYS (1994). "Cobalt, cadmium and lead sorption to hydrous iron oxide: residence time effect". Soil Sci. Soc. Amer. J. **58**:1615–1623.

ALVA, A.K., B. HUANG et S. PARAMASIVAM (2000). "Soil pH Affects Copper Fractionation and Phytotoxicity". Soil Sci. Soc. Amer. J. **64**: 955-962.

AMBROSE, R. B., HYDROGEOLOGIC et ALLISON GEOSCIENCE CONSULTANTS (1999). Partition Coefficients for Metals in Surface Water, Soil and Waste (draft). Washington, DC, US-EPA, 74 pp.

AMERICAN SOCIETY TESTING AND MATERIALS (2000). Annual Book of ASTM Standards, Vol 04.08. Philadelphia. PA, USA.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSN et WATER ENVIRONMENT FEDERATION. (1992). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. Franson MH ed. Washington DC: 5-15.

ANDREWES, P., R.M. TOWN, M.J. HEDLEY et P. LOGANATHAN (1996). "Measurement of plant available cadmium in New Zealand Soils", Austr. J. Soil Res. **34** : 441-452.

AOYAMA, M. et T. NAGUMO (1996). "Factors affecting microbial biomass and dehydrogenase activity in apple orchard soils with heavy metal accumulation", Soil Sci. Plant Nutr. **42**: 821-831.

AOYAMA, M. et T. NAGUMO (1997). "Effects of heavy metal accumulation in apple orchard soils on microbial biomass and microbial activities. Soil Sci. Plant Nutr. **43**: 601-612.

AQUATERRA ENVIRONMENTAL et ESG INTERNATIONAL INC. (2000). Assessment of the Biological Test Methods for Terrestrial Plants and Soil Invertebrates: Metals. Final Report, Prepared for the Method Development and Application Section, Environ.Technol.Centre, Environment Canada: 140 p.

ASAMI, T., M. KUBOTA et K. ORIKASA (1995). "Distribution of Different Fractions of Cadmium, Zinc, Lead, and Copper in Unpolluted and Polluted Soils". Water, Air and Soil Pollution **83**: 187-194.

ATLAS DU CANADA (2004). <http://atlas.gc.ca/site>

BALASOIU, C. F., G. J. ZAGURY et L. DESCHÊNES (2001). "Partitionning and speciation of chromium, copper and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition". The Science of the Total Environment **280**: 239-255.

BALASOIU, F.C. (2001). Influence de la composition des sols sur la spéciation et la toxicité du chrome, du cuivre et de l'arsenic dans les sols contaminés par du CCA. Département de génie chimique, École Polytechnique de Montréal, Montréal:159 pp.

BARE, C.J., G.A. NORRIS, D.W. PENNINGTON et T.E. MCKONE (2002). "TRACI". J. Industr. Ecol. **6** (4): 49-78.

BARTLETT, R. et B. JAMES (1980). "Studying dried, stored samples- Some pitfalls". Soil Sci. Soc. Amer. J. **44**: 721-724.

BELOTTI, E. (1998). "Assessment of a Soil Quality Criterion by Means of a Field Survey." Applied Soil Ecology **10**: 51-63.

BLISS, C.L. (1957). "Some principles of bioassay". Amer. Sci. **45**: 449-466.

BOLAN, N., D. ADRIANO, S. MANI et A. KHAN (2003). "Adsorption, Complexation and Phytoavailability of Copper as Influenced by Organic Manure." Environmental Toxicology and Chemistry **22**: 450-456.

BOYD, W. et P. L. WILLIAMS (2003). "Availability of Metals to the Nematode *Caenorhabditis Elegans* Toxicity Based on Total Concentrations in Soil and Extracted Fractions." Environmental Toxicology and Chemistry **22**: 1100-1106.

BRÜMMER, G.W., J. GERTH et K.G. TILLER (1988). "Reaction kinetics of the adsorption and desorption of nickel, zinc and cadmium by goethite: II. Adsorption and diffusion of metals". J. Soil Sci. **39**: 37-52.

BRUN, L.A., J. MAILLET, J. RICHARTE, P. HERRMANN et J.C. REMY (1998). "Relationship between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils". Environmental Pollution 102: 121-161.

BUCHTER, B., B. DAVIDOFF, M. C. AMACHER, C. HINZ, I. K. ISKANDAR et H. M. SELIM (1989). "Correlation of Freundlich K_d and n Retention Parameters with Soils and Elements." Soil Science 148: 370-379.

CAJUSTE, L.J., J. CRUZ-DIAZ et C. GARCIA-OSORIO (2000). "Extraction of Heavy Metals from Contaminated Soils: I. Sequential Extraction in Surface Soils and their Relationship to DTPA Extractable Metals and Metal Plant Uptake". J.Environ. Sci. Health. A35 (7): 1141-1152.

CAMPBELL, P.G.C. (1995). "Interactions between trace metals and aquatic organisms: a critique of the free ion activity model" In: A. Tessier and D.R. Turner (eds), Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems, John Wiley and Sons, New York, USA: 45-97.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (2003). Détermination de la toxicité létale avec le ver de terre (*Eisenia andrei*, *Eisenia fetida*). M.A. 500-VTL 1.0. Ministère de l'Environnement, Gouvernement du Québec, Québec, QC, Canada.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC (2000). Détermination de la germination et de la croissance avec les semences d'orge *Hordeum vulgare*. M.A. 500-G.C.1.0. Ministère de l'Environnement, Gouvernement du Québec, Québec, QC, Canada.

CHAIGNON, V., I. SANCHEZ-NEIRA, P. HERRMANN, P., B. JAILLARD et P. HINSINGER (2003). "Copper Bioavailability and Extractability as Related to Chemical Properties of Contaminated Soils from a Vine-Growing Area." Environmental Pollution **123**: 229-238.

CHAPMAN, H.D. (1965). "Cation-exchange capacity". In : Methods of Soils Analysis, Part 2-Chemical and microbiological properties. Black CA ed, American Society of Agronomy inc. Publisher. Madison, Wisconsin, USA: 891-901.

COCHRAN, W. G. (1950). "Estimation of bacterial density by means of the "most probable number"." Biometrics.

COOK, N. (1998). Bioavailability of trace metals in urban contaminated soils, Ph.D. thesis, McGill University, Ste-Anne-de-Bellevue, QC, Canada.

CÔTÉ, D. et S. SEYDOUX. (2003). Réflexions sur la stratification du lisier de porc dans les fosses durant les chantiers d'épandage. 17^e congrès de l'Association québécoise de spécialistes en sciences des sols. (AQSSS). Le sol et la biodiversité. 9 et 11 juin 2003. Université de Sherbrooke.

CRANE, M. et M.C. NEWMAN (2000). "What level of effect is a no observed effect?" Environmental Toxicology and Chemistry **19**: 516-519.

CROMMENTUIJN, T., D.F. KALF, M.D. POLDER, R. POSTHUMUS et E.J. VAN DE PLASSCHE (1997). Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentrations for Metals, Taking Background Concentration into Account, RIVM Report No. 601501001: 260 pp.

CROMMENTUIJN, T., M. POLDER, D. SIJM, J. DE BRUIJN et E. VAN DE PLASSCHE (2000). "Evaluation of the Dutch Environmental Risk Limits for Metals by Application of the Added Risk Approach." Environmental Toxicology and Chemistry **19**: 1692-1701.

DE GROOT, A.C., W.J.G.M. PEIJNENBURG, M.A.G.T. VAN DEN HOOP, R. RITSEMA et R.P.M. VAN VEEN (1998). Heavy metals in Dutch field soils: an experimental and theoretical study on equilibrium partitioning. Bilthoven, the Netherlands, RIVM.

DE KONING, A., J.B. GUINÉE, D.W. PENNINGTON, A.W. SLEESWIJK, M. HAUSCHILD, S. MOLANDER, B. NYSTRÖM, R. PANT et D. SCHOWANEK (2002) Methods and typology report A: Inventory and Classification of LCA Characterization Methods. Contribution to the work-package 7 of the OMNITOX Project 2002.

DI TOPPI, L.S., M.A. FAVALI, R. GABBRIELLI et P. GREMIGNI (2001). "Brassicaceae", In: Metals in the Environment - Analysis by Biodiversity, ed M.N.V. Prasad, USA, Marcel Dekker, Inc: 219-257.

DONKIN, S.G. et D.B. DUSENBERY (1993). "A soil toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* and an effective method of recovery". Arch. Environ. Contam. Toxicol **25**:145–151.

DUMESTRE, A., S. SAUVÉ, M. MCBRIDE et W.H. HENDERSHOT (1999). "Copper Speciation and Microbial Activity in Long-Term Contaminated Soils." Environmental Contamination and Toxicology **36**: 124-131.

EC - EUROPEAN COMMISSION (1996). Technical Guidance on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for existing

substances, 2nd part. Brussels, Commission of the European Communities, Directorate-General Environment, Nuclear Safety and Civil Protection, 337 pp.

EDWARDS, C.A. et P.J. BOHLEN (1992). "The effects of toxic chemicals on earthworms". Environ. Contam. Toxicol **125**:23–99.

EPA (2004). ECOTOX Database.

http://www.epa.gov/cgi-bin/ecotox_quick_search

EPA (1996). Soil Screening Guidance: Technical Background Document. Washington, DC, Office of Emergency and Remedial Response: 161 p.

ESNAOLA, M.V. et E. MILLAN (1998). "Evaluation of Heavy Metal Lability in Polluted Soils by a Cation Exchange Batch Procedure." Environmental Pollution **99**: 79-86.

ESNAOLA, M.V., A. BERMOND et E. MILLAN (2000). "Optimization of DTPA and Calcium Chloride Extractants for Assessing Extractable Metal Fraction in Polluted Soils", Comm. Soil Sci. Plant Anal. **31**: 13-29.

FAO (2004). Lecture notes on the major soils of the world.

www.fao.org/DOCREP/003/Y1899E/Y1899E00.htm

GE, Y., P. MURRAY, W.H. HENDERSHOT et S. SAUVÉ (2002). "Low metal bioavailability in a contaminated urban site", Environmental Toxicology and Chemistry **21**: 954-961.

GHARMALI, A.EL, A. RADA, M. EL MERAY et A. NEJMEDDINE (2001). "Etude de l'influence du ver terre *Lumbricus Terrestris* sur la capacité complexante de la solution du sol." Environment technology **22**: 447-453.

GHARMALI, A.EL, A. RADA, M. EL MERAY et A. NEJMEDDINE (2002). "Etude de l'effet du ver de terre sur la spéciation des métaux lourds." Environmental Technology **23**: 775-780.

GINOCCHIO, R., P.H. RODRIGUEZ, R. BADILLA-OHLBAUM, H.E. ALLEN et G.E. LAGOS (2002). "Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions." Environmental Toxicology and Chemistry **21**: 117-125.

GOEDKOPP, M. et R. SPRIENSMA (1999). The Eco-indicator 99: A Damage Oriented Method for Life Cycle Impact assessment. The Hague, NL: Ministry of Housing, Spatial Planning and the Environment (VROM).

GRIFFIN, R.A., W.A. SACK, W.R. ROY, C.C. AINSWORTH et I.G. KRAPAN (1986). "Batch Type 24-h Distribution Ratio for contaminant adsorption by Soil Materials", In: ASTM Publication: 390-408.

GUINÉE, J.B., R. HEIJUNGS, L. VAN OERS, D. VAN DE MEENT, T. VERMEIRE et M. RIKKEN, (1996). LCA impact assessment of toxic releases, generic modeling of fate, exposure and effect for ecosystems and human beings with data for about 100 chemicals. Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, The Hague.

GUINÉE, J.B., M. GORRÉE, R. HEIJUNGS, G. HUPPES, R. KLEIJN, A. DE KONING, L. VAN OERS, A.W. SLEESWIJK, S. SANG, H.A. UDO DE HAES, H.

DE BRUIJN, R. VAN DUIN et M.A.J. HUIJBREGTS (2000). An operational guide to the ISO Standard. CML, Leiden University, NL.

HAN, F. X., A. BANIN et G.B. TRIPLETT (2001). "Redistribution of Heavy Metals in Arid-zone Soils under a Wetting-drying Soil Moisture Regime." Soil Science **166**: 18-28.

HAUSCHILD, M. et H. WENZEL (1997). Environmental Assessment of Products. Volume 2, Scientific Background. Chapman and Hall, London, GB.

HAUSCHILD, M. et D. W. PENNINGTON (2002). "Indicators for Ecotoxicity in Life Cycle Impact Assessment". In : Life-Cycle Impact Assessment: Striving Towards Best Practice. eds Udo de Haes, Finnveden, Goedkoop *et al.* Pensacola, USA, SETAC: 209-225.

HEIJUNGS, R. (1995). "Harmonization of Methods for Impact Assessment". Environmental Science and Pollution Research **4**: 217-224.

HEIJUNGS, R., A. DE KONING, T. LIGTHART et R. KORENROMP (2004). Improvement of LCA characterization factors and LCA practice for metals, TNO Environment, draft report.

HELLWEG, S., U. FISCHER, T.B.HOFSTETTER et K. HUNGERBÜHLER (2004) "Site-dependent fate assessment in LCA: transport of heavy metals in soil", Journal of Cleaner Production, in press.

HERTWICH, E. G., T.E. MCKONE et W. PEASE (1999). "Parameter Uncertainty and Variability in Evaluative Fate and Exposure Model." Risk Analysis **19**: 1193-1204.

HERTWICH, E.G., T.E. MCKONE et W.S. PEASE (2000). "A systematic uncertainty analysis of an evaluative fate and exposure model", Risk Analysis **20**: 439-454.

HERTWICH, E. G., O. JOLLIET, D.W. PENNINGTON, M. HAUSCHILD, C. SCHULZE, W. KREWITT et M.A.J. HUIJBREGTS (2002). "Fate and Exposure Assessment in the Life-cycle Impact Assessment of Toxic Chemicals". In: Life-Cycle Impact Assessment: Striving Towards Best Practice. Eds Udo de Haes, Finnveden, Goedkoop et al., Pensacola, FL, SETAC: 101-120.

HOUBA, P.S. et B.J. ALLOWAY (1993). "Effects of Time and Temperature on the Bioavailability of Cd and Pb from Sludge Amended Soils", J. Soil Sci. **44**: 97-110.

HUANG, J.W., J. CHEN, W.R. BERTI et S.D. CUNNINGHAM (1997). "Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: Role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction", Environ. Sci. Technol. **31**: 800-805.

HUIJBREGTS, M.A.J. (1999). Ecotoxicological Effect Factors for the Terrestrial Environment in the Frame of LCA. Amsterdam, Univeersity of Amsterdam: 154 pp.

HUIJBREGTS, M.A.J., U. THISSEN, T. JAGER. D. VAN DE MEENT, A.M.J. RAGAS (2000a). "Priority Assessment of Toxic Substances in Life Cycle Assessment. Part I: Calculation of Toxicity Potential for 181 Substances with the Nested Multi-media Fate, Exposure and Effect Model USES-LCA." Chemosphere **41**: 541-573.

HUIJBREGTS, M.A.J., U. THISSEN, T. JAGER. D. VAN DE MEENT et A.M.J. RAGAS (2000b). "Priority Assessment of Toxic Substances in Life Cycle Assessment. Part III:Export of Potential Impact over Time and Space." Chemosphere **44**: 59-65.

HUIJBREGTS, M. A. J., S. LUNDI, T.E. MCKONE et D. VAN DE MEENT (2003). "Geographical scenario uncertainty in generic fate and exposure factors of toxic pollutants for life-cycle impact assessment." Chemosphere **51**: 501-508.

IMPELLITTERI, C. A., J. K. SAXE, M. COCHRAN, G.M.C.M. JANSSEN et H.E. ALLEN (2003). "Predicting the Bioavailability of Copper and Zinc in Soils: Modeling the Partitionning of Potentially Bioavailable Copper and Zinc from Soil Solid to Soil Solution", Environmental Toxicology and Chemistry **22**: 1380-1386.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION (1997). ISO 14040-1997 Environmental Management- LCA Principles and Framework.

JANSSEN, R. P. T., W. J. G. M. PEIJNENBURG, L. POSTHUMA et M.A.G.T. VAN DEN HOOP (1997a). "Equilibrium Partitionning of Heavy Metals in Dutch Field Soils. I. Relationship between Metal Partitionning Coefficients and Soil Characteristics." Environmental Toxicology and Chemistry **16**: 2470-2478.

JANSSEN, R. P. T., L. POSTHUMA, R. BAERDELMAN, H.A. DEN HOLLANDER, R.P.M. VAN VEEN et W.J.G.M. PEIJENENBURG (1997b). "Equilibrium Partitionning of Heavy Metals in Dutch Field Soils. II. Prediction of Metal Accumulation in Earthworm", Environmental Toxicology and Chemistry **16**: 2479-2488.

JARVIS, S.C. et D.C. WHITEHEAD (1981). "The Influence of Some Soil and Plant Factors on the Concentrations of Copper in Perennial Ryegrass", Plant and Soil **60**: 275-286.

JEFFERY, J.J. et N.C. UREN (1983). "Copper and Zinc Species in the Soil Solution and the Effects of Soil pH", Australian Journal of Soil Research **21**: 479-488.

JOLLIET , O. , J. ASSIES, M. BOVY, G. FINNVEDEN, J. GUINÉE, M. HAUSCHILAD, R. HEIJUNGS, P. HOFSTETTER, J. POTTING, HA UDO DE HAES et N. WRISBERG (1996). "Impact Assessment of Human and Ecotoxicity in Life Cycle Assessment". Part IV. In: Udo de Haes, HA, editor. Towards a Methodology for Life Cycle Impact Assessment. Brussels, B: SETAC Europe: 49-61.

JOLLIET, O., M. MARGNI, R. CHARLES, S. HUMBERT, J. PAYET, G. REBITZER et R. ROSENBAUM (2003). "IMPACT 2002+: A New Life Cycle Methodology", Int. J. of LCA **8**: 324-330.

KALLIO-PANTSAR, M., S.-P. REINIKAINEN et M. OKSANEN (2001). "Interactions of Soil Components and their Effects on Speciation of Chromium in Soils." Analytica Chimica Acta **439**: 9-17.

KAMMENG, J.E., P.H.G. VAN KOERT, J.A.G. RIKSEN, G.W. KORTHALS et J. BAKKER (1996). "A toxicity test in artificial soil based on the life-history strategy of the nematode *Plectus acuminatus*". Environ. Toxicol. Chem **15**, 722-727.

KARAM, A. (1993). "Chemical properties of organic soils". Soil Sampling and Methods of Analysis. Lewis Publishers. Boca Raton, FL, USA: 459-471.

KENNETTE, D., W. HENDERSHOT, A. TOMLIN et S. SAUVÉ (2002). "Uptake of trace metals by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils." Applied Soil Ecology **19**: 191-198.

KHALIL, M.A., H.M. ABDEL LATEIF, B.M. BAYOUMI, N.M. VAN STRAALLEN et C.A.M. VAN GESTEL (1996). "Effects of metals and metal mixtures on survival

and cocoon production of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*". Pedobiologia **40**:548–556.

KJÆR, C. et N. ELMGAARD (1996). "Effects of Copper Sulfate on Black Bindweed (*Polygonum convolvulus* L.)". Ecotoxicology and Environmental Safety **33**: 110-117.

KORTHALS, G.W., A.D. ALEXIEV, T.M. LEXMOND, J.E. KAMMENG et T. BONGERS (1996). "Long-Term Effects of Copper and pH on the Nematode Community in an Agrosystem." Environmental Toxicology and Chemistry **15**: 979-985.

KREWITT, W., T.M. BAHCMAN, T. HECK et A. TRUKENMÜLLER (2001). "Country-specific Damage Factors for Air Pollutants a Step towards Site Dependent Life Cycle Impact Assessment", Int. J. LCA **8**: 305.

KRISHNAMURTI, G. S. R., P. M. HUANG, K.C.J. VAN REES, L.M. KOZAK et H.P.W. ROSTAD (1995). "A New Soil Test Method for the Determination of Plant-Available Cadmium in Soils", Commun. Soil Science Plant Analytical **26** (17&18): 2857-2867.

KRISHNAMURTI, G.S.R. et R. NAIDU (2002). "Solid-Solution speciation and Phytoavailability of Copper and Zinc." Environmental Science and Technology **36**: 2645-2651.

KRUGER, G.A., R.E. KARAMANOS et J.P. SINGH (1985). "The Copper Fertility of Saskatchewan Soils", Can. J. Soil Sci. **64**: 89-99.

KULA, H. et O. LARINK (1998). "Tests on the Earthworms *Eisenia fetida* and *Aporrectodea caliginosa*". In: Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests. van Gestel et Lokke eds, Chichester, John Wiley and Sons: 95-112.

KUNITO, T., K. SACKI, H. OYAIZU et S. MATSUMOTO (1999). "Influence of Copper Forms on the Toxicity to Microorganisms in Soils", Ecotoxicology and Environmental Safety **44**: 174-181.

LASAT, M. M. (2002). "Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms." J. Environ. Quality **31**: 109-120.

LEBOURG, A., T. STERCKMAN, H. CIESIELSKI et N. PROIX (1996). "Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux traces des sols", Agronomie **16** : 201-215.

LEE, D.Y. et H.C. ZHENG (1993). "Chelating Resin Membrane Method for Estimation of Soil Cadmium Phytoavailability", Commun. Soil Sci. Plant Anal. **24**: 685-700.

LEHMANN, R.G. et R.D. HARTER (1984). "Assessment of copper bond strength by desorption kinetics". Soil Sci. Soc. Am. J. **48**: 769-772.

LEXMOND, T. M. (1980). "The Effect of Soil pH on Copper Toxicity to Forage Maize Grown under Field Conditions." Neth. J. agric. Sci. **28**: 164-183.

LIANG, J. et J. J. SCHOENAU (1995). "Development of Resin Membranes as a Sensitive Indicator of Heavy Metal Toxicity in the Soil Environment." Intern. J. Environ. Anal. Chem. **59**: 265-275.

LIANG, J. et J.J. SCHOENAU (1996). "Speciation in Metal Contaminated Soils as Revealed by an Ion Exchange Resin Membrane Fractionation Procedure", Commun. Soil Sci. Plant Anal. **27**: 3013-3026.

LINDSAY, W. L. et W. A. NORVELL (1978). "Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper." Soil Sci. Soc. Am. J. **42**: 421-428.

LOCK, K., C. R. JANSSEN et W. M. DE COEN (2000). "Multivariate Test Design to Assess the Influence of Zinc and Cadmium Bioavailability in soils on the Toxicity to *Enchytraeus albidus*." Environmental Toxicology and Chemistry **19**: 2666-2671.

Lock, K. et C. R. JANSSEN (2001a). "Cadmium Toxicity for Terrestrial Invertebrates: Taking soil Parameters Affecting Bioavailability into Account." Ecotoxicology **10**: 315-322.

LOCK, K. et C. R. JANSSEN (2001b). "Ecotoxicity of Zinc in Spiked Artificial Soils versus Contaminated Field Soils." Environment, Science, Technology **35**: 4295-4300.

LOCK, K. et C. R. JANSSEN (2001c). "Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*." Chemosphere **44**: 1669-1672.

LOCK, K. et C. R. JANSSEN (2001d). "Modeling Zinc Toxicity for Terrestrial Invertebrates." Environmental Toxicology and Chemistry **20**: 1901-1908.

LOCK, K. et C.R. JANSSEN (2001e). "Test designs to assess the influence of soil characteristics on the toxicity of copper and lead to the oligochaete *Enchytraeus albidus*", Ecotoxicology **10**, 137-144.

LOCK, K. et C. R. JANSSEN (2002). "Ecotoxicity of Chromium (III) to Eisenia fetida, Enchytraeus albidus, and Folsomia candida." Ecotoxicology and Environmental Safety **51**: 203-205.

LOCK, K. et C. R. JANSSEN (2003a). "Influence of Ageing on Copper Bioavailability in Soils." Environmental Toxicology and Chemistry **22**: 1162-1166.

LOCK, K. et C. R. JANSSEN (2003b). "Influence of ageing on zinc bioavailability in soils", Environmental Pollution **126**: 371-374.

LOGAN, E.M., I.D. PULFORD, G.T. COOK et A.B. MACKENZIE (1997). "Complexation of Cu²⁺ and Pb²⁺ by peat and humic acid", European Journal of Soil Science **48**: 685-696.

MA, W. (1984). "Sublethal Toxic effects of Copper on Growth, Reproduction and Litter Breakdown Activity in the Earthworm Lumbricus rubellus, with Observations on the Influence of Temperature and Soil pH." Environmental Pollution **33**: 207-219.

MA, H., S.D. KIM, H.E. ALLEN et D.K. CHA (2002) "Effect of Copper Binding By Suspended Particulate Matter on Toxicity." Environmental Toxicology and Chemistry **21**: 710-714.

MA, W (1988). "Toxicity of copper to lumbricid earthworms in sandy agricultural soils amended with Cu-enriched organic waste materials". Ecol Bull **39**:53-56.

MACKAY, D. (2001). Multimedia Environmental Models: the Fugacity Approach. 2nd edition, Etats-Unis, Lewis Publishers.

MACLEOD, M., D.G. WOODFINE, D. MACKAY, T.E. MCKONE, D. BENNETT et R. MADDALENA (2001). "BETR North America: A Regionally Segmented Multimedia Contaminant Fate Model for North America". Environmental Science and Pollution **8**: 156-163.

MAIZ, I., I. ARAMBARRI, R. GARCIA et E. MILLAN (2000). "Evaluation of Heavy Metal Availability in Polluted Soils by Two Sequential Extraction Procedures Using Factor Analysis", Environmental Pollution **110**: 3-9.

MARSHALL, I. B. et P. H. SCHUT (1999). Cadre écologique national pour le Canada, Environnement Canada et Agriculture et Agroalimentaire Canada, Ottawa-Hull, Canada.

MCBRIDE, M.B. (2001). "Cupric ion activity in peat soil as a toxicity indicator for maize". J Environ Qual **30**:78-84.

MCGRATH, S.P., J.R. SANDERS et M.H. SHALABY (1988). "The Effects of Soil Organic Matter Levels on Soil Solution Concentrations and Extractabilities of Manganese, Zinc and Copper", Geoderma **42**: 177-188.

MCGRATH, D. (1996). "Application of single and sequential extraction procedures to polluted and unpolluted soils", The Science of the Total Environment **178**: 37-44.

MCGRATH, S.P.A.A. (2002). "Phytoremediation of Metals, Metalloids and Radionuclides". Advances in Agronomy. D. L. Sparks. New York, Academic Press. **75**: 1-56.

MCKONE, T.E. (1993). "CalTOX: A Multimedia Total-Exposure Model for Hazardous Wastes Sites." Livermore, Californie: Lawrence Livermore National Laboratory. UCRL-CR-111456PtI.

MCLAREN, R.G., J.G. WILLIAMS et R.S. SWIFT (1983). "Some Observations in the Desorption and Distribution Behaviour of Copper with soil Components", J.Soil Sci. **34**: 325-331.

MCLAUGHLIN, M.J., S.J. ANDREW, M.K. SMART et E. SMOLDERS (1998). "Effects of Sulfate on Cadmium Uptake by Swiss Chard I. Effects on Complexation and Calcium Competition in Nutrient Solution", Plant Soil **202**: 211-216.

MCLAUGHLIN, M. J., B. A. ZARCINAS, D.P. STEVENS et N. COOK (2000). "Soil Testing for Heavy Metals", Commun. Soil Science Plant Analytical **31**(11-14): 1661-1700.

MCLEAN, J. E. et B. E. BLEDSOE (1992). "Behavior of Metals in Soils." EPA Ground Water Issue **EPA/540/S-92/018**: 25 p.

MENV (2004). L'acidité des eaux au Québec
www.menv.gouv.qc.ca/air/pre_acid/brochure/textel.htm

MERRY, R.H., K.G. TILLER et A.M. ALSTON (1986). "The Effects of Soil Contamination with Copper, Lead and Arsenic on the Growth and Composition of Plants", Plant Soil **95**: 255-269.

MILES, L.J. et G.R. PARKER (1979). "Heavy Metal Interaction with *Andropogon scoparius* and *Rudbeckia hirta* Grown on Soil from Urban and Rural Sites with Heavy Metal Addition", Journal of Environmental Quality **8**: 443-449.

MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT DE LA SASKATCHEWAN (2004).

www.se.gov.sk.ca/protection/water/water.asp

MITCHELL, R.L., M.D. BURCHETT, A. PULKOWNIK et L. MCCLUSKEY (1988). "Effects of environmentally hazardous chemicals on the emergence and early growth of selected Australian plants". Plant and Soil 112: 195-199.

MOREL, J.-L. (1997). "Bioavailability of Trace Elements to Terrestrial Plants". Soil Ecotoxicology. Eds J. Tarradellas, G. Britton and D. Rossel, CRC Press, Boca Raton, L, USA: 141-176.

MOUSTAKAS, M., G. OUZOUNIDOU, L. SYMEONIDIS et S. KARATAGLIS (1997). "Field Study of the Effects of Excess Copper on Wheat Photosynthesis and Productivity." Soil Sci. Plant Nutr. 43 (3): 531-539.

NAIDU, R., G.S.R. KRISHNAMURTI, W. WENZEL, M. MEGHARAJ et N.S. BOLAN (2001). "Heavy Metal Interactions in Soils and Implications for Soil Microbial Biodiversity". In: Metals in the Environment. Analysis by Biodiversity. M. N. V. Prasad ed, Basel, Marcek Dekker inc.: 401-431.

NEUHAUSER, E.F., M.R. MALECKI et R.C. LOEHR (1984). "Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia fetida* after exposure to sublethal concentrations of metals". Pedobiologia 27: 89-97.

NEUHAUSER, E.F., R.C. LOCHR, D.L. MILLIGAN et M.R. MALECKI (1985). "Toxicity of metals to the earthworm *Eisenia foetida*". Biology and Fertility of Soils 1: 149-152.

NIGGE, K.M. (2001) "Generic Spatial Classes for Human Health Impact. Part II: Application in a Life Cycle Assessment of Natural Gas Vehicles", Int. J. LCA 6: 334-338.

OBRADOR, A., M.I. RICO, J.J. MINGOT et J.M. ALVAREZ (1997). "Metal Mobility and Potential Bioavailability in Organic Matter-Rich Soil-Sludge Mixtures: Effect of Soil Type and Contact Time." The Science of the Total Environment **206**: 117-126.

O'CONNOR, G.A. (1988). "Use and misuse of the DTPA test". J. Environ. Qual. **17**:715-718.

OTTE, J.G., J.J.M.V. GRINSVEN, W.J.G.M. PEIJNENBURG et A. TIKTAK (1999). Determination of field-based sorption isotherms for Cd, Cu, Pb and Zn in Dutch soils. Amsterdam, RIVM: 96 pp.

PARKER, D.R., J.F. PEDLAR, Z.A.S. AHNSTROM et M. RESKETO (1991). "Reevaluating the Free-Ion Activity Model of Trace Element Metal Toxicity Towards Higher Plants: Experimental Evidence with Copper and Zinc", Environmental Toxicology and Chemistry **20**: 223-228.

PATTERSON, W. et J.J. OLSON (1983). "Effects of heavy metals on radicle growth of selectec woody species germinated on filter paper, mineral and organic soil substrates." Can. J. For. Res. **13**: 233-238.

PAYET, J. et O. JOLLIET (2003). "Comparative Assessment of the Toxic Impact of metals on aquatic ecosystems: the AMI method". In: Life Cycle Assessment of Metals: Issues and research directions, A. Dubreuil Ed., SETAC Book.

PEDERSEN, M. B. et C. A. M. VAN GESTEL (2001). "Toxicity of Copper to the Collembolan *Folsomia fimetaria* in Relation to the Age of Soil Contamination." Ecotoxicology and Environmental Safety **49**: 54-59.

PEDERSEN, M. B., C. KJAER et N. ELMGAARD (2000). "Toxicity and Bioaccumulation of Copper to Black Bindweed (*Fallopia convulvulus*) in Relation to Bioavailability and the Age of Soil Contamination", Arch. Environ. Contam. Toxicol. **39**: 431-439.

PEIJNENBURG, W.J.G.M., L. POSTHUMA, H.J.P. EIJSACKERS et H.E. ALLEN (1997). "A Conceptual Framework for Implementation of Bioavailability of Metals for Environmental Management Purposes", Ecotoxicology and Environmental Safety **37**: 163-172.

PEIJNENBURG, W.J.G.M., R. BAERSELMAN, A. DE GROOT, T. JAGER, L. POSTHUMA et R. VAN VEEN (1999). "Relating Environmental Availability to Bioavailability: Soil-Type Dependent Metal Accumulation in the Oligochaete *Eisenia Andrei*", Ecotoxicology and Environmental Safety **44**: 294-310.

PEIJNENBURG, W.J.G.M., R. BAERSELMAN, A. DE GROOT, T. JAGER, D.LEENDERS, L. POSTHUMA et R. VAN VEEN (2000). "Quantification of Metal Bioavailability for Lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Field Soils", Arch. Environ. Contam. Toxicol. **39**: 420-430.

PENNEY, D.C., E.D. SOLBERG, I.R. EVANS et L.J. PIENING (1988). "The copper fertility of Alberta soils", Great Plains Soil Fertility Workshop Proceedings, vol. 2, Kansas State University. Manhattan, KS 66506.

PENNINGTON, D. W., M. MARGNI, J. PAYET, R. CHARLES et O. JOLLIET (2003). "Estimating cumulative toxicological risks and potential impacts in human health and ecosystems in LCA", manuscript EPFL, submitted to Environmental Toxicology and Chemistry.

PLENDERLEITH, R.W. et L.C. BELL (1990). "Tolerance of Twelve Tropical Grasses to High Soil Concentraions of Copper", Tropical Grasslands **24**: 103-110.

POSTHUMA, L., R. BAERSELMAN, R.P.M. VAN VEEN et E.M. DIRVEN-VAN BREEMEN (1997). "Single and joint toxic effects of copper and zinc on reproduction of *Enchytraeus crypticus* in relation to sorption of metals in soils". Ecotoxicol Environ Saf **38**:108–121.

POSTHUMA, L., G.W. SUTER II et T.P. TRAAS (2001). Species sensitivity distributions in ecotoxicology. CRC Press, Boca Raton FL, USA.

QUÉBEC, MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT (1999). Grille des critères génériques pour les sols, Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés, Québec, Canada.

REEVES, R.D. et A. J.M. BAKER (2000). "Metal-Accumulating Plants", In: Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment. D. Ensley ed, New York, John Wiley and sons: 193-246.

RHOADS, F. M., S.M. OLSON et A. MANNING (1989). "Copper Toxicity in Tomato Plants", J. Environ. Quality **18**: 195-197.

RUNDGREN, S. et C.A.M. VAN GESTEL (1998). "Comparison of Species Sensitivity" In: Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests. van Gestel and Lokke eds, John Wiley and sons, NY, USA: 41-67.

SAHUQUILLO, A., A. RIGOL et G.RAURET (2003). "Overview of the Use of Leaching-Extraction Tests for Risk Assessment of Trace Metals in Contaminated Soils and Sediments." Trends in Analytical Chemistry **22**: 152-159.

SALIM, R., S.A. SAYRAFI, O. SAYRAFI et M. ISA (1995). "Growth, metal Uptake, and Uptake Distribution of Spinach, Parsley Plants Irrigated with Copper Solutions", J. Environ. Sci. Health **A30**(9): 2057-2069.

SANDERS, J.R. (1982). "The effect of pH upon the copper and cupric ion concentrations in soil solutions", J. Soil Sci. **33**: 679-689.

SANDERS, J.R., S.P. MCGRATH et T.M. ADAMS (1987). "Zinc, Copper and Nickel Concentrations in Soil Extracts and Crops Grown on Four Soils Treated with Metal-Loaded Sewage Sludges", Environ. Poll. **44**: 193-210.

SANDIFER, R.D. et S.P. HOPKIN (1996). "Effects of pH on the Toxicity of Cadmium, Copper, Lead and Zinc to *Folsomia Candida* Willem, 1902 (Collembola) in a Standard Laboratory Test System", Chemosphere **33**: 2475-2486.

SANDIFER, R.D. et S.P. HOPKIN (1997). "Effects of temperature on the relative toxicities of Cd, Cu, Pb, and Zn to *Folsomia candida* (Collembola)", Ecotoxicol Environ Saf **37**:125–130.

SAUERBECK, D.R. et P. STYPEREK (1985). The Significance of Soil Parameters for Improving the Correlation between Plant and Soil Cadmium Contents, FAO European Network of Trace Elements, Newsletter, 4th issue. Coordinating Centre of the State Univ. Belgium: 15 pp.

SAUVÉ, S., N. COOK, W.H. HENDERSHOT et M.B. MCBRIDE (1996). "Linking Plant Tissue Concentrations and Soil Copper Pools in Urban Contaminated Soils." Environmental Pollution **94**: 153-157.

SAUVÉ, S., M.B. MCBRIDE, W.A. NORVELL et W.H. HENDERSHOT (1997). "Copper Solubility and Speciation of in situ Contaminated Soils: Effects of Copper Level, pH and Organic Matter." Water, Air and Soil Pollution **100**: 133-149.

SAUVÉ, S., A. DUMESTRE, M. MCBRIDE et W.H. HENDERSHOT (1998). "Derivation of Soil Quality Criteria using Predicted Chemical Speciation of Pb²⁺ and Cu²⁺", Environmental Toxicology and Chemistry **17**: 1481-1489.

SAUVÉ, S., W.H. HENDERSHOT et H.E. ALLEN (2000). "Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH, Total Metal Burden and Organic Matter." Environmental, Science and Technology **34**: 1125-1131.

SAUVÉ S. (2003). "The role of chemical speciation in bioavailability". In: Naidu R, Gupta VVSR, Kookana RS, Rogers S and Adriano D. (eds) Bioavailability, Toxicity and Risk Relationships in Ecosystems. Science Publishers Inc., Enfield, NH: 59-82.

SAXE, J.K., C.A. IMPELLITTERI, W.J.G.M. PEIJNENBURG et H.E. ALLEN (2001). "Novel Model Describing Trace Metal Concentrations in the Earthworm, *Eisenia andrei*." Environmental Science and Technology **35**: 4522-4529.

SCHALSCHA, E.G., M. MORALES, I. VERGARA et A.C. CHANG (1982). "Chemical fractionation of heavy metals in waste-affected soils". J. Water Poll. Control Fed. **54**: 175-180.

SCHRAMMEL, O., B. MICHALKE et A. KETTRUP (2000). "Study of the copper distribution in contaminated soils of hop fields by single and sequential procedures", The Science of the Total Environment **263**: 11-22.

SCHULZE, C., A. JODICKE, M. SCHERINGER, M. MARGNI, O. JOLLIET, K. HUNGERBUHLER et M. MATTHIEST (2001). "Comparison of different life-cycle impact assessment methods for aquatic ecotoxicity", Environmental Toxicology and Chemistry **20**: 2122-2132.

SCOTT-FORDSMAND, J.J. et M.B. PEDERSEN (1995). Soil Quality Criteria for Selected Inorganic Compounds. Miljøstyrelsen. Arbejdsrapport fra Miljøstyrelsen 48.

SCOTT-FORDSMAND, J.J., M.B. BRUUS PEDERSEN et J. JENSEN (1996). "Setting soil quality criterion", Toxicology and Ecotoxicology News **3**: 20-24.

SCOTT-FORDSMAND, J.J., J.M. WEEKS et S.P. HOPKIN (2000a). "Importance of Contamination History for Understanding Toxicity of Copper to Earthworm *Eisenia Fetida* (Oligochaeta:annelida), using Neutral-red Retention Assay", Environmental Toxicology and Chemistry **19**: 1774-1780.

SCOTT-FORDSMAND, J.J., P.H. KROGH et J.M. WEEKS (2000b). "Responses of *Folsomia Fimetaria* (Collembola: Isotomidae) to Copper under Different Soil Copper Contamination Histories in Relation to Risk Assessment." Environmental Toxicology and Chemistry **19**(5): 1297-1303.

SHEPPARD, M.I. et M. STEPHENSON (1997). "Critical Evaluation of Selective Extraction Methods for Soils and Sediments". In: R.Prost ed, Contaminated Soils, 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Institut National de la Recherche Agronomique: 69-97.

SIEDLECKA, A., A. TUKENDORF, E. SKORZYNSKA-POLIT, W. MAKSYMIEC, M. WOJCIK, T. BASZYNSKI et Z. KRUPA (2001). "Angiosperms (Asteraceae, Convolvulaceae, Fabaceae and Poaceae, other than Brassicaceae)", In: Metals in the

Environment. Analysis by Biodiversity, MNV Prasad ed, Basel, Marcel Dekker inc.: 171-217.

SMIT, C. E., P. V. BEELEN et C.A.M. VAN GESTEL (1997). "Developement of Zinc Bioavailability and Toxicity for the Springtail *Folsomia Candida* in an Experimentally Contaminated Field Plot." Environmental Pollution **98**: 73-80.

SMIT, C.E. et C.A.M. VAN GESTEL (1996). "Comparison of the Toxicity of Zinc of the Springtail *Folsomia Candida* in Artificially Contaminated and Polluted Field Soils." Applied Soil Ecology **3**: 127-136.

SMIT, C.E. et C.A.M. VAN GESTEL (1998). "Effects of Soil Type, Prepercolation and Ageing on Bioaccumulation and Toxicity of Zinc for the Springtail *Folsomia candida*." Environmental Toxicology and Chemistry **17**: 1132-1141.

SMITH, S. R. (1994). "Effect of Soil pH on Availability to Crops of Metals in Sewage Sludge-Treated Soils. I.Nickel, Copper and Zinc Uptake and Toxicity to Ryegrass." Environmental Pollution **85**: 321-327.

SMOLDERS E. et M.J. MCLAUGHLIN (1996). "Chloride Increases Cadmium Uptake in Swiss Chard in a Resin-Buffered Nutrient Solution", Soil Sci. Soc. Am. J. **60**: 1443-1447.

SPOSITO, G., K.H. HOLTZCLAW, C.S. LEVESQUE et C.T. JOHNSTON (1982). "Trace metal chemistry in arid zone field soils amended with sewage sludge: II. Comparative study of the fulvic acid fraction", Soil Sci. Soc. Am. J. **46**:265-275

SPURGEON, D. J., S.P.HOPKINS et D.T. JONES (1994). "Effects of Cadmium, Copper, Lead and Zinc on Growth, reproduction and Survival of the Earthworm

Eisenia Fetida (Savigny): Assessing the Environmental Impact of Point-Source Metal Contamination in terrestrial Ecosystems." Environmental Pollution **84**: 123-130.

SPURGEON, D.J., C. SVENDSEN, P. KILLE, A.J. MORGAN et J.M. WEEKS (2003). "Quantifying Copper and Cadmium Impacts on Intrinsic Rate of Population Increase in the Terrestrial Oligochaete *Lumbricus Rubellus*." Environmental Toxicology and Chemistry **22**: 1465-1472.

SRIVASTAVA, S., S. SRIVASTAVA, S. PRAKASH et M. M. SRIVASTAVA (1998). "Studies on mobilization of chromium with reference to its plant availability-role of organic acids." BioMetals **12**: 210-207.

STATISTIQUES CANADA (2000). L'activité humaine et l'environnement. Numéro 11-509-XPF. Ottawa. 352 pp.

STATSOFT, INC. *STATISTICA for Windows* (Computer program manual). 1997. StatSoft, Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa, OK, USA, 74104.

STRAWN, D.G. et D.L. SPARKS (1999). Sorption Kinetics of Trace Elements in Soils and soil Materials, In: Fate and Transport of Heavy Metals in Vadose zone. Selim ed. Chelsea, MI, Lewis Publishers: 1-28.

STREIT, B., A. JAGGY (1983). "Effect of soil type on copper toxicity and copper uptake in *Octolasion cyaneum* (Lumbricidae)". In: New Trends in Soil Biology, Lebrun, Andre, de Medts, Grigoire-Wibo et Wauthy (eds), 8th Proceedings, Int. Coll. Soil Zoology, Louvain-la-Neuve (Belgium), August 30-September 2, 1982. Dien-Brichart, Ottignies-Louvain-la-Neuve, Belgium : 369-375.

SVENDSEN, C. et J.M. WEEKS (1997). "Relevance and Applicability of a Simple Earthworm Biomarker of Copper Exposure." Ecotoxicology and Environmental Safety **36**: 72-79.

TAMBASCO, G., S. SAUVÉ S, N. COOK, M. MCBRIDE et W. HENDERSHOT (2000). Phytoavailability of Cu and Zn to lettuce (*Lactuca sativa*) in contaminated urban soils." Can. J. Soil Sci. **80**: 309-317.

TEMMINGHOFF, E.J.M., S. VAN DE ZEE et M.G. KEIZER (1994). "The Influence of pH on the Desorption and Speciation of Copper in a Sandy Soil." Soil Science **158**(6): 398-408.

TEMMINGHOFF, E.J.M., S. VAN DE ZEE et F.A.M. DE HAAN (1997). "Copper Mobility in a Copper-Contaminated Sandy Soil as Affected by pH and Solid and Dissolved Organic Matter", Environmental Science and Technology **31**: 1109-1115.

TESSIER, A., P.G.C. CAMPBELL et M. BISSON (1979). "Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals", Analytical Chemistry **51**: 844-851.

TOM-PETERSEN, A., H.C.B. HANSEN et O. NYBROE (2004). "Time and Moisture Effects on Total and Bioavailable Copper in Soil Water Extracts". J. Environ. Qual. **33**: 505-512

UDO DE HAES, FINNVEDEN, GOEDKOOP, HAUSCHILD, HERTWICH, HOFSTETTER, JOLLIET, KLÖPFFER, KREWITT, LINDEIJER, MÜLLER-WENK, OLSEN, PENNINGTON, POTTING et STEEN (2002). Life-Cycle Assessment: Striving Towards Best Practice. Pensacola, FL, SETAC.

URE, A., P. QUEVAUVILLER, H. MUNTAU et B. GRIEPINK (1993). BCR information EUR 14763 EN, Community Bureau of Science.

USEPA (1999). MINTEQA2/PRODEFA2, A Geochemical Assessment Model for Environmental Systems: User Manual Supplement for Version 4.0.

VAN BEELEN, P., E.M.VERBRUGGEN et W.J. PEIJNENBURG (2003). "The Evaluation of the Equilibrium Partitioning Method using Sensitivity Distributions of Species in Water and Soil", *Chemosphere* **52** (7): 1153-1162.

VAN DE MEENT, D. (1993). *SIMPLEBOX: A Generic Multimedia Fate Evaluation Model*. Pays-Bas: National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM) Rapport 672720001.

WADA, D., S.I. WADA (1999). "Kinetics of Speciation of Copper, Lead, and Zinc Loaded to Soils that Differ in Cation Exchanger Composition at Low Moisture Content", *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 30 (17&18):2363-2375.

WALSH, L.M., W.H. ERHARDT et H.D. SEIBEL (1972). "Copper Toxicity in Snapbeans (*Phaseolus vulgaris* L.)", *J. Environ. Qual.* 1: 197-200.

WANG, Z., X.Q. SHAN et S. ZHANG (2002). "Comparison between fractionation and bioavailability of trace elements in rhizosphere and bulk soils", *Chemosphere* **46**:1163-1171.

WHITTEN, M.G.et G.S.P. RITCHIE (1991). "Calcium Chloride Extractable Cadmium as an Estimate of Cadmium Uptake by Subterranean Clover", *Austr. J. Soil Res.* **29**: 215-221.

WRISBERG, N., H.A. UDO DE HAES, U. TRIEBSWETTEREDER et CLIFT, R. (2002). Analytical Tools for Environmental Design and Management in a Systems Perspective, the Combined Use of Analytical Tools. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

YIN, Y., C.A. IMPELLITTERI, S.J. YOU et H.E. ALLEN (2002). "The importance of Organic Matter Distribution and Extract Soil:Solution Ratio on the Desorption of Heavy Metals from Soils." The Science of the Total Environment **287**: 107-119.

YUAN, G. et L. M. LAVKULICH (1997). "Sorption Behavior of Copper, Zinc, and Cadmium in Response to Simulated Changes in Soil Properties." Commun. Soil Science Plant Analytical **28**(6-8): 571-587.

ZAGURY, G. J., S. M. COLOMBANO, K.S. NARASIAH, G. BALLIVY (1997). "Stabilisation de résidus acides miniers par des résidus alcalins d'usines de pâtes et papiers." Environmental Technology **18**: 959-973.

ZAGURY, G. J., Y. DUDAL, J. BUREAU, C. BASTIEN et R. CHASSÉ (2002). "Sample Handling and Preparation for Estimation of Mobility Bioavailability and Toxicity of Contaminants in Soils". In: Environmental Analysis of Contaminated Sites, Sunahara G.I., Renoux A.Y., Thellen C., Gaudet C.L. and Pilon A. (eds), Montreal, QC, Canada: 9-23.

ANNEXES

ANNEXE I: Données écotoxicologiques sur le cuivre

Tableau I.1 : Données écotoxicologiques portant sur le cuivre

Groupe	Espèce	pH	%matière organique	% argile	Type d'effet	EC 50 mg Cu/kg	Source
Végétaux	Citron	5.7	1		Croissance	64.7	Alva et al., 2000
	Citron	6.5	0.4			78.9	Alva et al., 2000
	Barbon à balais	4.8	1.93			63.9	Miles et Parker, 1979
	Tomate	5.5	2.7			231	Rhoads et al., 1989
	Chou-fleur	7		0.1		160	Salim et al., 1995
	Epinard	7		0.1		170	Salim et al., 1995
	Persil	7		0.1		280	Salim et al., 1995
	Fève	6.7	0.7			43.7	Walsh et al., 1972
	Laitue	4	6.3	20	Germination	80	Environnement Canada (EC), 1995
	Radis	4.1	10.4	20		81	EC, 1995
	Radis	4.2	4.4	20		88	EC, 1995
	Laitue	4.2	4.7	20		91	EC, 1995
	Radis	4.2	4.7	20		101	EC, 1995
	Laitue	4.1	10.4	20		103	EC, 1995
	Renouée	6.4	1.7	11.1		263.5	Kjaer et Elmegaard, 1996

Invertébrés	Concombre	5.4	2			431.3	Mitchell et al., 1988
	Avoine	5.5	2			441.3	Mitchell et al., 1998
	Lumbricus rubellus	7.3	5.5	17		96.3	Ma, 1984
	Lumbricus terrestris	5	5	3		122	Ma, 1988
	L.rubellus	4.8	5.7	2		178.3	Ma, 1984
	Enchytraeus crypticus	6	10	20		477	Posthuma et al., 1997
	Folsomia candida	6	10	20		640	Sandifer and Hopkin, 1997
	F.candida	5	10	20		710	Sandifer and Hopkin, 1996
	F. candida	4.5	10	20		1480	Sandifer and Hopkin, 1996
	F. candida	5.5	0	5		129	Scott-Fordsmand et al., 1996
	Eisenia fetida	6.75		35		210	Scott-Fordsmand et Pedersen, 1995
	Plectus acuminatus	5.5	10	20		162	Kammenga et al., 1996


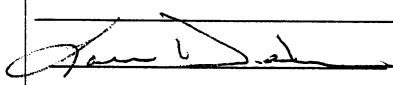
Reproduction et
croissance
(chronique)
Reproduction et
croissance
(chronique)

Aporrectodea caliginosa	7.05	21.6			186	Khalil et al., 1996
Allobophora chlorotica	5	5	3		51	Ma, 1988
A. caliginosa	5	5	3		68	Ma, 1988
Caenorhabditis elegans	5.1	3	16	Mortalité	413	Donkin et Dusenbery, 1993
C.elegans	6.2	1.7	16		533	Donkin et Dusenbery, 1993
C.elegans	6.2	2.2	39		629	Donkin et Dusenbery, 1993
C.elegans	6.1	3.4	20		1060	Donkin et Dusenbery, 1993
E.albidus	4.4	1.46	0		134	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	4.4	8.54	0		403	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	6.6	1.46	0		144	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	6.6	8.54	0		587	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	5.5	5	0		271	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	5.5	5	0		300	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	5.5	0	0		15	Lock et Janssen, 2001

E.albidus	5.5	10	0	Mortalité	423	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	4	5	0		169	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	7	5	0		530	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	5.5	5	0		286	Lock et Janssen, 2001
E.albidus	5.5	5	0		271	Lock et Janssen, 2001
E.fetida	4	6.3	20		350	EC, 1995
E.fetida	4.1	10.4	20		360	EC, 1995
E.fetida	6.1	12.8	30.1		391.5	Aquaterra, 2000
E.fetida	4.2	4.7	20		420	EC, 1995
E.fetida	6	10	20		439.79	Edwards et Bohlen, 1992
E.fetida	6	10	20		643	Neuhauser et al., 1985
E.fetida	6	10	20		683	Spurgeon et al., 1994
E.fetida	8.1	3.5	13.3		704.1	Aquaterra, 2000
E.fetida	6.1	9.0	14.9		745.9	Aquaterra, 2000
E.fetida	6.1	9.0	14.9		768.0	Aquaterra, 2000
E.fetida	7.8	2.9	11.4		851.6	Aquaterra, 2000
E.fetida	7.8	2.9	11.4		948.0	Aquaterra, 2000
E.fetida	8.1	3.5	13.3		1541.6	Aquaterra, 2000
E.fetida	6.1	12.8	30.1		1949.1	Aquaterra, 2000
L.terrestris	7.8	2.9	11.4		369.9	Aquaterra, 2000

L.terrestris	6.1	9.0	14.9	538.2	Aquaterra, 2000
L.terrestris	8.1	3.5	13.3	573.4	Aquaterra, 2000
L.terrestris	7.8	2.9	11.4	674.5	Aquaterra, 2000
L.terrestris	6.1	12.8	30.1	819.2	Aquaterra, 2000
L.terrestris	6.1	9.0	14.9	846.5	Aquaterra, 2000
L.terrestris	8.1	3.5	13.3	869.0	Aquaterra, 2000
L.terrestris	6.1	12.8	30.1	1218.7	Aquaterra, 2000
Octolasion cyaneum	4.78	3.2		180	Streit et Jaggy, 1983
O.cyaneum	4.5	14		850	Streit et Jaggy, 1983
O.cyaneum	4.5	43.6		2500	Streit et Jaggy, 1983
O.folsomi	6.09	9	14.9	2910	Aquaterra, 2000
O.folsomi	6.05	12.8	30.1	4700	Aquaterra, 2000

ANNEXE II : Protocoles expérimentaux

		<h2 style="text-align: center;">PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL</h2>	
Protocole # :PE 59A		Nombre de pages :3	
Version :1/1		Date : 30 août 2003	
Auteur(s): Catherine Daoust _____ _____			
Approuvé par : Manon Leduc Louise Deschênes		Signatures : 	Date : 30 août 2003

<h3>II.1 Constitution de sols synthétiques selon un design expérimental statistique</h3>
Mots clés : mélange, sable, limon, argile, matière organique, pH, design statistique

1. OBJECTIFS

Ce protocole décrit la méthodologie à suivre pour constituer une série de sols artificiels suivant un design expérimental de mélange présenté dans le document « L'influence de la composition du sol et du pH sur les mesures d'écotoxicité dans les sols contaminés » (Clément, 2002). Pour chacun des pH étudiés, les sols seront composés de matière organique, d'argile et de sable dans les mêmes proportions. En tout, cinq (5) sols aux compositions différentes seront constitués.

2. DESIGN STATISTIQUE

La plage de composition des sols pour chacun des constituants est :

$5\% < \text{argile} < 35\%$

$1\% < \text{matière organique} < 30\%$

$35\% < \text{sable} < 94\%$

Pour un pH donné

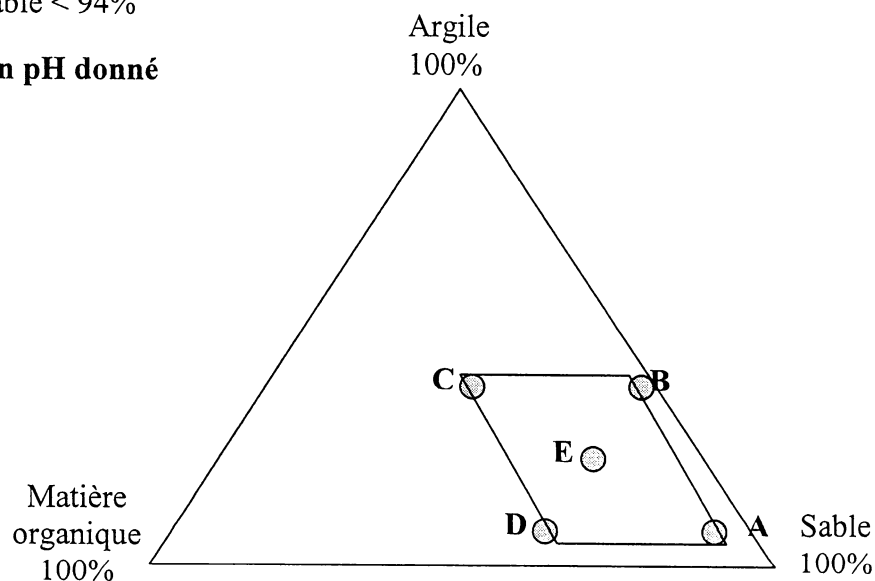


Figure II.1 : Design statistique

3. MATÉRIEL

- 70 kg sec sable Ottawa standard C-109
- 25 kg sec illite (argile naturelle- Mont St-Hilaire)
- 15 kg sec tourbe de sphaigne tamisée à 2mm
- 16 chaudières de 20 l en HDPE
- 1 balance
- matériel pour analyse du poids sec (PSO-A7)
- 1 bétonnière 2.5 pi³

4. MÉTHODOLOGIE

- 1) Pour chacun des constituants, déterminer le poids sec (PSO-A7).
- 2) Pour chacun des cinq sols identifiés dans le design expérimental, peser les quantités de constituants de sol correspondant au poids sec inscrit dans le tableau suivant:


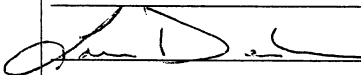
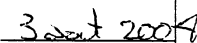
Tableau 4.1 : Quantité de constituants de sol à mélanger (kg sec)

Sols	Répétition statistique	Argile (illite)	Matière organique (tourbe)	Sable	Total
A	1	0.6	0.12	11.28	12
B	2	8.4	0.24	15.36	24
C	2	1.2	7.2	15.6	24
D	1	4.2	3.6	4.2	12
E	2	6	4.65	19.35	30

- 3) Mélanger les constituants à l'intérieur de la bétonnière jusqu'à homogénéité.

5. RÉFÉRENCES

CLÉMENT, B. (2002). Designs expérimentaux: influence de la composition du sol et du pH sur les mesures d'écotoxicité dans les sols contaminés au cuivre. Montreal, Genistat Conseils Inc., 6p.

		<p>PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL</p>	
Protocole # :PE 59B		Nombre de pages : 4	
Version : 01		Date:30 août 2003	
Auteur(s): Catherine Daoust			
<div style="border-bottom: 1px solid black; width: 100%;"></div> <div style="border-bottom: 1px solid black; width: 100%;"></div>			
Approuvé par :		Signatures :	Date :
Manon Leduc			
Louise Deschênes			30 août 2004

<p>II.2 Contamination des sols synthétiques au sulfate de cuivre</p>
<p>Mots clés : contamination, adsorption, CuSO_4</p>

1. OBJECTIF

La contamination en cuivre des sols peut être simulé par le mélange de ce sol à une solution de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, sel fréquemment utilisé dans les tests écotoxicologiques à cause, entre autres, de sa grande solubilité. Aussi, le contre-anion SO_4^{2-} influence peu la croissance des organismes et est moins toxique que l'ion Cl^- ou NO_3^{2-} (Kjaer et al., 2000).

La solubilité du $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ est de 20.8 g/100 g à 20 C.

2. MATÉRIEL

- matériel pour déterminer la teneur en eau selon le PSO-A7 ;
- matériel nécessaire pour l'ajustement du pH selon le protocole PE 35 F 2/2 ;
- matériel nécessaire pour la digestion totale de sol (PE59E);
- 1 centrifugeuse;
- 1 balance analytique;
- 6 bouteilles en polycarbonate de 500 ml résistante à une vitesse de centrifugation de 11000*g;
- 3 béchers (40, 100, 500 ml);
- 1 pipette 0,5 ml;
- 2 ballons jaugés 500ml;
- 1 pipette Pasteur;
- 1 spatule en Téflon;
- 1 agitateur rotatif (55rpm);
- filtres (0,45um) en polycarbonates;
- 3 seringues de plastique 30ml;
- plats en pyrex;

- agitateur de type Wrist Action
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- eau déionisée

3. MÉTHODOLOGIE

Avant l'expérience : Envoyer un échantillon de 2,5 kg du sol centroïde contaminé à 2000 mg/kg et un échantillon de même volume non contaminé au CEAEQ pour déterminer la EC_{50} des tests sur l'orge et le ver de terre. Utiliser le protocole ci-dessous pour contaminer le sol. Le résultat des EC_{50} sera utilisé afin de déterminer quelle concentration de CuSO_4 sera utilisée dans la contamination de tous les sols. La valeur de 2000 mg/kg est basé sur plusieurs tests écotox notamment (Spurgeon et al., 1994 ; Neuhasser, 1994).

Il est connu que l'adsorption des métaux a lieu en deux temps : une phase initiale rapide et réversible, suivie par une période lente. La séparation entre les deux phases est arbitraire, elle a lieu quelques heures ou quelques jours après la contamination.

Suivant l'étude de Allen et al. (2001), la période d'adsorption du cuivre sur la matière organique est instantanée (moins d'une heure), tandis que les complexes qu'ils forment ensemble prennent jusqu'à 6 heures à se former. Plusieurs études sur l'adsorption des métaux sur les sols sont basées sur des périodes de 24 h ou moins, car l'équilibre est supposé atteint (Griffin et al., 1986). Cependant, il est connu que la séparation entre les fractions de métaux dans le sol et dans la solution est dépendante de processus lents. Sparks, (1999) McBride (1982), Sheppard et al.(1995) et Banin et al.(1999) ont noté que l'adsorption du cuivre sur des sols sablonneux, organiques ou argileux augmentait au fil des semaines. Comme l'expérience conduite dans ce projet de maîtrise porte sur le vieillissement de la contamination, nous avons décidé de

prendre un peu plus que la période minimale couramment utilisée soit 72 heures pour l'adsorption initiale, puis les observations suivantes seront indicatives de l'évolution de la partition entre la solution du sol et le sol lui-même.

Contamination du sol

- 1) Après avoir ajuster le pH des sols conformément au protocole PE59 C, déterminer le poids sec de ceux-ci selon le protocole PSO-A7 ;
- 2) Peser la quantité de sol sec nécessaire à la balance analytique et noter le poids ;
- 3) Transférer le sol dans le mélangeur à terreau.
- 4) Parallèlement, si le pH de l'eau déionisée n'est pas près de la neutralité, faire buller de l'air pendant 30 minutes ;
- 5) Ajouter 500 ml d'eau déionisée dans un ballon jaugée de 1 L.
- 6) Ajouter la masse de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ déterminé par les résultats du test préliminaire de EC50 (voir section 3) dans le ballon jaugé ;
- 7) Compléter avec de l'eau déionisée jusqu'à la jauge et mélanger.
- 8) Ajouter graduellement la solution au sol en plusieurs petites répétitions.

a. Période de contact avec agitation

Agiter le sol dans le mélangeur à terreau pendant 30 minutes. (Sheppard et al., 1995)

b. Vieillissement de la contamination

- 9) Transférer le sol dans des plats en pyrex en couche très fines et entreposer le sol à la température de la pièce jusqu'à ce qu'il soit sec (environ 3 jours) ; Laisser reposer pendant 72 heures (Sheppard et al., 1995 ; Balasoui., 2001).


- 10) Broyer le sol sec, puis tamiser à 2 mm.
- 11) Transférer le sol sec contaminé à l'aide d'instruments en plastique ou en téflon dans des contenants de 2L et agiter pendant 24 heures pour l'homogénéisation du sol.
- 12) Déterminer le pH, la CEC et la capacité tampon du sol contaminé ;
- 13) Si nécessaire, réajuster le pH du sol contaminé selon le protocole PE59C
- 14) Procéder à la digestion du sol (PE59 E) ;
- 15) Envoyer 2,5 kg de sol contaminé au CEAEQ pour les analyses écotoxicologiques.

4. RÉFÉRENCES

BALASOIU, F. C. (2001). Influence de la composition des sols sur la spéciation et la toxicité du chrome, du cuivre et de l'arsenic dans les sols contaminés par du CCA, Mémoire de maîtrise, Département de génie chimique, École Polytechnique de Montréal: 159 p.

HAN, F. X., A. Banin and G.B. Triplett (2001). "Redistribution of Heavy Metals in Arid-zone Soils under a Wetting-drying Soil Moisture Regime." Soil Science 166(1): pp.18-28.

SPURGEON, D. J., S.P.HOPKINS and D.T. JONES (1994). "Effects of Cadmium, Copper, Lead and Zinc on Growth, reproduction and Survival of the Earthworm *Eisenia Fetida* (Savigny): Assessing the Environmental Impact of Point-Source Metal Contamination in terrestrial Ecosystems." Environmental Pollution 84: pp.123-130.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL		
Protocole # :PE 59 E	Nombre de pages :8	
Version : 01	Date :30 août 2003	
Auteur(s): Catherine Daoust		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> Approuvé par : Manon Leduc Louise Deschênes </div> <div> Signatures :  </div> <div> Date : 3 août 2004 </div> </div>		

II.3 Détermination de la fraction soluble, soluble et échangeable (CaCl_2 et DTPA), de l'ion libre, de la quantité totale de calcium et de cuivre, du carbone organique dissous et des anions (Cl , SO_4 et NO_3) à l'aide de techniques d'extractions simples

Mots clés: extractions simples, eau déionisée, CaCl_2 , DTPA, digestion totale, ion libre, DOC, anions

1. OBJECTIFS

L'ion libre, les fractions soluble, et soluble et échangeable du métal sont des indicateurs de la mobilité et de la biodisponibilité de celui-ci dans l'environnement terrestre. La répartition du métal total compris dans le sol est évaluée au moyen d'extractions simples inspirées de méthodes existantes: Tessier et al. (1979), Zagury et al. (1997), Balasoïu et al. (2001), Blanchard (2001) et Schramel et al. (2000).

Le but de cette manipulation est de caractériser les fractions soluble et, soluble et échangeable (CaCl_2 et DTPA) de cinq sols contaminés par le cuivre (PSO59B) ainsi que le cuivre et le calcium total. La fraction soluble permet également de déterminer la concentration en carbone organique dissous, en ion libre (Cu^{2+}) et en anions (Cl^- , SO_4^{2-} et NO_3^-).

2. MATÉRIEL

- a. 1 échantillon de sol contaminé
- b. 1 agitateur de type Wrist Action
- c. 1 centrifugeuse Beckman J2-21 + rotor 10000rpm
- d. 48 tubes à centrifugation en polypropylène copolymérisé (PPCO) avec bouchons
- e. 1 balance analytique Mettler Toledo AB204 ou PB302 (précision de $\pm 0,0002\text{g}$)
- f. plaques chauffantes
- g. gants isolants
- h. 1 paire de pince
- i. 1 micro-pipette de 1ml
- j. 1 micro-pipette de 5 ml

- k. embouts de micro-pipettes 5 ml et 1ml
- l. 11 béchers de 100ml en Teflon
- m. 11 ballons jaugés en verre de 100ml avec bouchons
- n. 16 vials (pour mesure du Cu^{2+})
- o. 16 erlenmeyers en verre de 250 ml avec bras sur le côté
- p. 16 Bücher avec entonnoir en polypropylène
- q. 16 filtres Whatman GF/F de 0,7 μm
- r. 64 bouteilles HDPE de 14 ml du labo Philip
- s. 27 bouteilles HDPE de 50 ml du labo Philip
- t. 2 ml H_3PO_4 concentré
- u. eau déionisée
- v. solution 0.5 M de CaCl_2 (voir section 3.2)
- w. solution de DTPA (voir section 3.2)
- x. 90 ml d'une solution concentrée de HNO_3 , 70%(v/v)
- y. 120 ml d'une solution concentrée de HClO_4 , 70% (p/v)
- z. 6 ml d'une solution concentrée de HF , 48% (p/v)

3. MÉTHODOLOGIE

3.1 Lavage du matériel

Avant de débiter l'expérience, s'assurer de bien laver toute la verrerie de même que le matériel en Teflon et en PPCO deux fois à l'acide nitrique (HNO_3) 10% (v/v), puis de la rincer trois fois à l'eau déionisée.

Pour ce faire, laver d'abord la vaisselle à l'aide d'un détergent doux et de l'eau distillée, puis rincer à l'eau déionisée. Une fois la vaisselle ainsi lavée, déposer (à l'aide de gants en nitrile) le matériel propre dans le bac de lavage no.1 à l'acide nitrique 10% (v/v) situé sous la hotte #1 pour la nuit. Le lendemain, sortir la vaisselle

rincée à l'eau déionisée, remettre dans le second bac de lavage à l'acide nitrique 10% (v/v) situé sous la hotte #1 pendant une heure. Au bout d'une heure, sortir le matériel et le rincer à l'eau déionisée.

3.2 Préparation des solutions

1 litre de CaCl_2 0,5 mol-1 ajusté à pH=7

- 1) Peser 73.505 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ et déposer dans un ballon de 1000ml;
- 2) Ajouter 500ml d'eau déionisée, puis agiter pour dissoudre les cristaux;
- 3) Compléter avec de l'eau déionisée jusqu'à un volume d'environ 980 ml;
- 4) Le pH de cette solution doit être ajusté à 7. Noter le pH de cette solution, puis, selon le PSO A5 ajouter, au besoin, quelques gouttes d'HCl concentré 36% (p/v) à l'aide de la pipette pasteur jusqu'à l'obtention du pH désiré;
- 5) Lorsque le pH souhaité est atteint, compléter jusqu'à la jauge avec de l'eau déionisée.

1 litre de DTPA/MgCl₂/TEA (pH=7,3)

- 1) Peser 1,9665 g de DTPA et déposer dans un ballon de 1000ml;
- 2) Peser 1.4701 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2(\text{H}_2\text{O})$ et déposer dans le ballon;
- 3) Mesurer 13,27 ml de TEA et déposer dans le même ballon;
- 4) Ajouter 500ml d'eau déionisée, puis agiter pour dissoudre les cristaux;
- 5) Compléter avec de l'eau déionisée jusqu'à la jauge.

3.3 Extractions simples en parallèles

- 1) Laver tous les instruments et la verrerie énumérés dans la section 2 suivant la méthode décrite à la section 3.1;

- 2) Effectuer un poids sec de chacun des 5 sols selon le PSO A7 (duplicata);
- 3) Numéroté 48 tubes de 40 ml en PPCO qui seront utilisés lors de cette expérience;
- 4) Peser environ (noter le poids exact) la masse inscrite au tableau 1 pour le type de sol indiqué dans chacun des tubes.

Tableau II.1 : Contenu solide des tubes à centrifugation # 1 à 48

# tube	Sol	Masse (g)
1 à 3	A	3
4 à 9	A	1,5
10 à 12	B	3
13 à 18	B	1,5
19 à 21	C	3
22 à 27	C	1,5
28 à 30	D	3
31 à 36	D	1,5
37 à 39	E	3
40 à 45	E	1,5
46 à 48	-	0

- 5) Peser précisément environ 1,4g de chacun des sols dans des béchers en Teflon qui serviront à la digestion totale (duplicata);

3.3.1 Fraction soluble

- 6) À l'aide de la micro-pipette de 5 ml, ajouter 30 ml d'eau déionisée (6 x 5ml) dans les tubes à centrifugation # 1-3, 10-12, 19-21, 28-30, 37-39 et 46;

- 7) Boucher les tubes et les fixer sur un agitateur Wrist Action (fixé à vitesse 10), faire agiter pendant 2h à température de la pièce;
- 8) Centrifuger les tubes durant 30 minutes à 10000 rpm (rotor JA-20), 12000 g)
- 9) Filtrer le surnageant dans un erlenmeyer sous vide;
- 10) Déposer une partie de la solution recueillie dans une bouteille en HDPE de 14 ml du laboratoire Philip préalablement identifiée pour analyse externe sur le cuivre par ICP;
- 11) Transvaser le restant de la solution dans des vials et mesurer l'ion libre Cu^{2+} en solution avec l'électrode à ion spécifique ORION 9429 selon la méthode décrite par le PE 59F;

3.3.2 Fraction soluble et échangeable (CaCl_2)

- 6) À l'aide de la micro-pipette de 5 ml (changer d'embout), ajouter 15 ml de solution CaCl_2 constituée en 3.2 (3 x 5 ml) aux tubes à centrifugation #4-6, 13-15, 22-24, 31-33, 40-42 et 47;
- 7) Boucher les tubes et les fixer sur un agitateur Wrist Action (fixé à vitesse 10), faire agiter pendant 2 heures à la température de la pièce;
- 8) Centrifuger les tubes durant 30 minutes à 10000 rpm (rotor JA-20), 12000 g);
- 9) Filtrer le surnageant dans un erlenmeyer sous vide;
- 10) Déposer une partie de la solution recueillie dans une bouteille en HDPE de 14 ml du laboratoire Philip préalablement identifiée pour analyse externe sur le cuivre par ICP;

3.3.3 Fraction soluble et échangeable (DTPA)

- 6) À l'aide de la micro-pipette de 5 ml, ajouter 15 ml de la solution DTPA constituée en 3.2 (3 x 5 ml) aux tubes de centrifugation 7-9, 16-18, 25-27, 34-36, 43-45 et 48;

- 7) Boucher les tubes et les fixer sur un agitateur Wrist Action (fixé à vitesse 10), faire agiter pendant 2 heure à la température de la pièce;
- 8) Centrifuger les tubes durant 30 minutes à 10000 rpm (rotor JA-20), 12000 g);
- 9) Filtrer le surnageant dans un erlenmeyer sous vide;
- 10) Déposer une partie de la solution recueillie dans une bouteille en HDPE de 14 ml du laboratoire Philip préalablement identifiée pour analyse externe sur le cuivre par ICP.

3.3.4 Mesure de la DOC et des anions

- 1) Mesurer 4 g de sol dans 3 tubes en PPCO;
- 2) À l'aide de la micro-pipette de 5 ml, ajouter 40 ml d'eau déionisée (8 x 5ml) à 4 tubes à centrifugation dont 3 contenant les échantillons de sol;
- 3) Boucher les tubes et les fixer sur un agitateur Wrist Action (fixé à vitesse 10), faire agiter pendant 2h à température de la pièce;
- 4) Centrifuger les tubes durant 30 minutes à 10000 rpm (rotor JA-20), 12000 g)
- 5) Filtrer le surnageant dans un erlenmeyer sous vide;
- 6) Déposer une partie de la solution recueillie (environ 25ml) dans une bouteille en HDPE de 50 ml du laboratoire Philip préalablement identifiée pour analyse externe sur le COT (bouteille contenant 0.5 ml de H₃PO₄);
- 7) Déposer environ 10 ml de la même solution dans une autre bouteille en HDPE de 14 ml pour envoi au labo Philip pour analyse chromatographique ionique des anions.

3.4 Digestion totale

- 6) Déposer les béchers en Teflon sur une plaque chauffante sous la hotte chimique à raison de 2 béchers par plaque;
- 7) Ajouter progressivement 15 ml de HNO₃ 70% (v/v) aux échantillons à l'aide de la micro-pipette de 5 ml (3x 5 ml);

- 8) Fixer le chauffage à 3 pendant 10 minutes;
- 9) Augmenter le chauffage à 4 et chauffer jusqu'à presque assèchement (environ 50 minutes). Puis, répéter l'étape 7 une seconde fois. Ne pas laisser sécher l'échantillon;
- 10) Fermer le chauffage, retirer les béchers des plaques à l'aide des gants isolants et attendre qu'ils refroidissent (30 min.) dans la hotte à flot laminaire;



Attention! Ajouter l' HClO_4 seulement lorsque la solution est bien refroidie. L'ajout d'acide perchlorique (HClO_4) à une solution chauffée contenant de la matière organique peut provoquer une violente explosion! L'acide fluorhydrique (HF) est extrêmement dangereux surtout en présence d'une solution chauffée; il détruit le verre et peut causer des dommages à l'expérimentateur par inhalation et adsorption cutanée. Un onguent contre les brûlures au HF est disponible.

- 11) Ajouter 20 ml de HClO_4 concentré (70%_{p/v}) et 1 ml de HF concentré (48% p/v) aux béchers une fois ceux-ci bien refroidis à l'aide de pipettes automatiques de 5 ml (4 x 5ml) et 1 ml;
- 12) Remettre les béchers sur les plaques chauffantes et fixer le chauffage à 2 pendant 10 minutes;
- 13) Augmenter le chauffage à 4 et chauffer pendant 2 heures jusqu'à ce que la solution soit claire et qu'il y ait apparition de fumée blanche pendant au moins une heure;
- 14) Fermer le chauffage, retirer les béchers des plaques à l'aide de gants isolants et attendre que les digestats refroidissent (30 min.) dans la hotte à flot laminaire;
- 15) Pendant le refroidissement des digestats, installer un montage de filtration sous vide dans la hotte à flot laminaire. Le montage est constitué par un erlenmeyer de 250 ml en verre comportant un bras sur le côté relié au vide et d'un entonnoir en polypropylène avec un filtre Whatman de 0,7 μm . Un montage par échantillon devra être réalisé et toutes ses composantes identifiées par rapport au numéro de l'échantillon. Le matériel devra être lavé tel que décrit à l'étape 3.1.

- 16) Une fois les digestats refroidis, filtrer les échantillons un à un dans la hotte chimique. À l'aide d'un flacon laveur d'eau déionisée, bien rincer le contenu du bécher lors du transvasage au filtre;
- 17) Transvaser les filtrats contenus dans les erlenmeyers à des ballons jaugés en verre de 100ml lavés selon la méthode décrite en 3.1 à l'aide des mêmes entonnoirs ayant servi à tenir les filtres. Mélanger le contenu des ballons à l'aide des bouchons, puis compléter jusqu'à la jauge avec de l'eau déionisée;
- 18) Transvaser 8 ml de chacun des échantillons dans une bouteille en HDPE du laboratoire Philip identifiée pour analyse externe sur le cuivre par ICP. Le reste des échantillons peut être transvasé dans une bouteille de 50 ml en polypropylène, puis conservé à 4 degrés Celsius. Le contenu inutilisé doit être disposé avec les déchets acides;
- 19) Remplir le formulaire de demande d'analyse chez Philip et envoyer les échantillons selon les critères contractuels spécifiés dans la soumission.

4. RÉFÉRENCES

Balasoïu, C. F., G. J. Zagury, et L. Deschênes (2001). "Partitionning and speciation of chromium, copper and arsenic in CCA-contaminated soils: influence of soil composition." The Science of the Total Environment 280: pp.239-255.

Blanchard, C. (2000), Caractérisation de la mobilisation potentielle des polluants inorganiques dans les sols pollués, École doctorale de chimie de Lyon, 285 p.

Brun, L.A. , Maillet, J.; Richarte, J.; Herrmann, P.; Remy, J.C. (1998) "Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils", Environmental Pollution 102 (2-3): 151-161.

Esnaola, M. V. and E. Millan (1998). "Evaluation of Heavy Metal Lability in Polluted Soils by a Cation Exchange Batch Procedure." Environmental Pollution 99: 79-86


Pedersen, M. B. and C. A. M. v. Gestel (2001). "Toxicity of Copper to the Collembolan *Folsomia fimetaria* in Relation to the Age of Soil Contamination." Ecotoxicology and Environmental Safety 49: 54-59.

Sahuquillo, A., A. Rigol, G. Rauret (2003). "Overview of the Use of Leaching Extraction Tests for Risk Assessment of Trace Metals in Contaminated Soils and Sediments." Trends in Analytical Chemistry 22(3): 152-159.

Schramel, O., B. Michalke, A. Kettrup (2000). "Study of the copper distribution in contaminated soils of hop fields by single and sequential procedures." The Science of the Total Environment 263: pp.11-22.

Tambasco, G., S. Sauvé S, N. Cook, M. McBride et W. Hendershot (2000). "Phytoavailability of Cu and Zn to lettuce (*Lactuca sativa*) in contaminated urban soils." Can. J. Soil Sci. 80: pp.309-317.

Tessier, A., P. G. C. Campbell, et M. Bisson (1979). "Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals." Analytical Chemistry 51(7): 844-851.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: P33-B	Pages: 5
Version: 2/2	Date Début: 01/12/98
	Date fin: 16/02/99
<p>Auteur: Kahina Oudjehani</p> <p>Approuvé par:</p> <p>Gérald Zagury</p> <p>Manon Leduc</p>	<p>Signatures:</p> <p>_____</p>  <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Date: ____ / ____ / ____</p>

II.4 Méthode de détermination de la Capacité d'Echange Cationique (CEC)

Mots clés: CEC, NaOAc, NH₄OAc, cations, métaux, absorption atomique.

1. Objectif

L'objectif principal de la CEC est d'estimer la quantité de cations échangeables dans le résidu minier. Celle-ci nous permettra par la suite de connaître sa capacité de rétention ou de relargage des métaux lourds.

Principe

La méthode de détermination de la CEC est simple, elle s'effectue en trois étapes. La première étape consiste à enlever les cations échangeables adsorbés sur le résidu et les remplacer par le sodium (Na^+) et cela par un premier lavage avec la solution d'acétate de sodium (NaOAc). La deuxième étape est un lavage successif du résidu avec l'alcool isopropylique pour enlever l'excès de sodium. Enfin, la troisième étape est un dernier lavage qui consiste cette fois-ci à récupérer le sodium en le remplaçant par l'ion ammonium (NH_4^+) contenu dans la solution d'acétate d'ammonium (NH_4OAc). Le sodium qui a occupé les sites vacants des cations échangeables est ensuite dosé par absorption atomique.

2. Matériel

Note : La verrerie et les tubes à centrifugeuse doivent être préalablement lavés à l'acide ;

Procédure : Faire un premier trempage dans l'acide nitrique (10%) (laisser environ 3 heures), ensuite rincer 3 fois à l'eau distillée et 3 fois à l'eau purifiée. Refaire un deuxième trempage toujours dans l'acide nitrique (10 %) (Laisser environ 3 heures), puis rincer 3 fois à l'eau distillée et 3 fois à l'eau purifiée.

- Balance de 0.01 de précision ;
- Agitateur de type Wrist action et de marque Burrel ;
- Centrifugeuse ;

- Agitateur magnétique ;
- Barreau magnétique ;
- Cylindre gradué de 50 ml ;
- Tubes à centrifugeuse 50 ml en polypropylène de base ronde et de col étroit.
- Pipettes neuves et stériles 10 ml (jetables) (ne pas laver à l'acide) ;
- Pipette 50 ml ;
- Spatules en acier inoxydable ;
- Bouteilles en HDPE ou en PE (pour l'entreposage des solutions finales) ;
- Bêcher en verre 500 ml ;
- Paire à pipette ;
- Pipetman 1ml ;
- pH mètre ;
- Ballon volumétrique (100, 1000 et 2000 ml).

2. Réactifs

- Acétate de sodium $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ou bien Acétate de sodium anhydre CH_3COONa ;
- Acide acétique glacial (99.5%) ;
- Eau purifiée (eau nanopure, résistivité $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) ;
- Solution de NaOH, 10 N;
- Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) ;
- Alcool isopropylique 99% ;
- Acide nitrique 10% (HNO_3) ;
- Acétate d'ammonium $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (au cas où vous choisissez la deuxième

possibilité de préparer l'acétate d'ammonium 1 N).

4. Méthodologie

Préparation des solutions :

1. Acétate de sodium (NaOAc), 1 N : Peser 136 g de $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ou bien 82 g d'acétate de sodium anhydre (CH_3COONa) dans un ballon de 1000 ml. Dissoudre avec 500 ml d'eau purifiée, puis agiter la solution sur l'agitateur magnétique pendant 15 mn, mettre le chauffage à 4 (ceci va permettre d'accélérer la dissolution des cristaux). Une fois que la solution est bien homogène, compléter jusqu'à 980 ml. Le pH de cette solution doit être 8.2. Au besoin, ajouter quelques gouttes d'acide acétique ou bien d'une solution de NaOH (selon le cas) pour ramener la solution d'acétate de sodium à pH=8.2. Lorsque le pH devient égal à 8.2 compléter la dilution jusqu'au volume de 1000 ml.
2. Acétate d'ammonium (NH_4OAc) 1 N : Dans un ballon volumétrique de 2000 ml, mesurer 114 ml d'acide acétique glacial (99.5%) à l'aide des pipettes de 50 et 10 ml. Ajouter environ 1000 ml d'eau purifiée, ensuite ajouter 138 ml d'hydroxyde d'ammonium concentré (NH_4OH). Compléter avec de l'eau purifiée jusqu'au volume de 1980 ml. Vérifier le pH pour la solution résultante. Rajouter au besoin du (NH_4OH) ou de l'acide acétique glacial pour obtenir une solution de pH = 7, puis compléter jusqu'au volume 2000 ml avec de l'eau purifiée.

➤ Acétate d'ammonium (NH_4OAc) 1 N (deuxième possibilité) :

Il y a une autre façon plus simple de préparer la solution d'acétate d'ammonium 1 N :

- Peser 77.08 g de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ dans un ballon volumétrique de 1000 ml,

dissoudre avec environ 300 ml d'eau purifiée ensuite compléter avec de l'eau purifiée jusqu'à environ 980 ml. Lire le pH de la solution résultante. Rajouter au besoin du (NH₄OH) ou de l'acide acétique glacial pour obtenir une solution de pH = 7.0, puis compléter jusqu'au volume 1000 ml avec de l'eau purifiée.

Procédure d'extraction :

Note: À réaliser en duplicata.

1. Peser 4 g de résidu minier dans le tube à centrifugeuse.
2. Déterminer en parallèle sur un autre échantillon la teneur en eau (PSO A7), (les résultats seront exprimés en poids sec).
3. Mesurer 33 ml de la solution NaOAc 1 N dans un cylindre de 50 ml, ensuite les ajouter dans le tube à centrifugeuse. Fermer bien le tube puis agiter pendant 5 mn dans l'agitateur Wrist action à vitesse 5.
4. Centrifuger à 10,000 rpm jusqu'à ce que le surnageant soit clair (approximativement 10mn).
5. Pipeter le surnageant à l'aide des pipettes 10 ml et s'en défaire en évitant de prendre des particules de sols (prendre des pipettes neuves pour chaque échantillon). NB : pour pipeter le fond du tube utiliser le pipetman 1 ml.
6. Répéter les étapes 3, 4 et 5 deux autres fois.
7. Mesurer maintenant 33 ml d'alcool isopropylique 99% à l'aide du cylindre gradué 50 ml, ajouter-les ensuite dans le tube à centrifugeuse. Fermer bien le tube puis agiter pendant 10 mn dans l'agitateur Wrist action à vitesse 5.
8. Faire exactement les étapes 4 et 5.
9. Refaire les étapes 7 et 8 deux autres fois.
10. Ajouter maintenant 33 ml de NH₄OAc 1N, fermer bien le tube puis agiter pendant 5 mn dans l'agitateur Wrist action à vitesse 5.
11. Centrifuger à 10,000 rpm jusqu'à ce que le surnageant soit clair

(approximativement 10 mn).

12. Retirer à l'aide des pipettes 10 ml le surnageant et le récupérer dans un ballon volumétrique de 100 ml (prendre des pipettes neuves pour chaque échantillon).
13. Répéter les étapes 10, 11 et 12 deux autres fois en additionnant les surnageants de l'étape 12 dans le même ballon de 100 ml.
14. Diluer la solution récupérée dans le ballon jusqu'au volume exact de 100 ml avec la solution de NH_4OAc 1N, (car le volume total récupéré sera inférieur à 100 ml).
15. Le sodium Na est dosé par absorption atomique.

Calcul

$$CEC = \left(\frac{a}{10}\right) \times \left(\frac{1}{23}\right) \times \left(\frac{100}{b}\right) \quad [meq / 100g \text{ residu sec}]$$

Où,

a = Concentration de sodium (mg/l);

b = Masse du résidu sec (g).

Remarques

- Ne pas laisser les solutions de sodium dans les ballons volumétriques une fois l'expérience finie, entreposer-les dans des bouteilles en HDPE ou en PE à 4 °C et doser-les à l'absorption atomique le plutôt possible.
- On peut réaliser l'expérience de la CEC pour 4 échantillons en duplicata en même temps, mais pas plus, car on ne peut utiliser que 8 tubes à centrifugeuse à la fois.

Références

Chapman, H.D. 1965. Cation exchange capacity. Methods of soil analysis, part 2. Chemical and microbiological properties, 891-901.

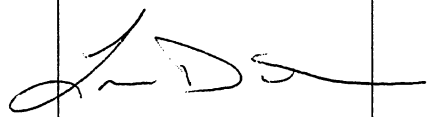
Bower, C.A., Reitmeir, R.F., and Fireman, M. 1952. Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils. Soil Science. A : 63-79.

jkhjhj

Recommandations

- La détermination de la CEC est une expérience délicate à réaliser. Pour ce faire, il faut toujours s'assurer qu'au moment de pipeter le surnageant, les particules de résidu ne soient pas prises.
- Il est recommandé de réaliser cette expérience en duplicata ou en triplicata pour pouvoir comparer vos résultats. Pour réaliser cette expérience en triplicata vous ne pouvez l'effectuer que sur 2 échantillons à la fois, car l'espace dans la centrifugeuse est disponible uniquement pour 8 tubes. Par contre vous pouvez l'effectuer sur 4 échantillons si vous décidez de la faire en duplicata.
- Il est à conseiller d'envoyer avec les échantillons pour le dosage du sodium un blanc (juste de l'eau purifiée), et une solution dont la concentration en Na est connue (préparée avec du NaCl).
- Si vous avez plusieurs échantillons à faire en même temps, utilisez des pipettes propres (jetables) pour chacun des échantillons et pour chacun des réplicats.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: P33-A	Pages: 4
Version: 1/1	Date: 08/06/99

<p>Auteur (s): Kahina Oudjehan Jean-Philippe Bertrand</p> <p>Approuvé par:</p> <p>Gérald Zagury</p> <p>Manon Leduc</p>	<p>Signatures:</p> <hr/>  <hr/> <hr/> <p>Date: ____ / ____ / ____</p> <hr/>
<p>II.5 Détermination de la matière organique par combustion à 550°C</p> <p>Mots clés: Matière organique, matière volatile, cendres, résidu.</p>	

1. OBJECTIF

La méthode de détermination de la matière organique par combustion du résidu à 550°C permet de déterminer le pourcentage des cendres (matière minérale). Cette donnée est ensuite utilisée pour calculer le pourcentage de la matière organique contenue dans le résidu. L'étape de séchage à 105°C permet également de déterminer le pourcentage d'eau.

2. MATÉRIELS

- Four à 550 °C ;
- Creuset en porcelaine, 30 ml résistant à des températures élevées, préalablement nettoyé ;
- Dessiccateur ;
- Balance analytique (précision de 0.0001 g) ;
- Spatule, cuillère, etc. (propres) ;
- Four réglable à une température constante et uniforme de 105 °C \pm 5 °C ;
- Gants de protection contre la chaleur ;
- Paire de pinces en acier à long manche.

3. Méthodologie

À réaliser en duplicata

16. Peser environ précisément 5 g de résidu dans un creuset de porcelaine préalablement pesé ;
17. Mettre à sécher dans le four à 105 °C pendant 12 h au minimum ;

18. Placer au dessiccateur pendant 30 mn au minimum ;
19. Peser le creuset ;
20. Remettre à l'étuve pour une période de deux heures et reprendre les étapes 3 et 4 ;
21. Reprendre l'étape 5 jusqu'à l'obtention d'un poids constant (différence de 5 mg au maximum) ;
22. Placer le creuset + résidu dans le four à 550 °C ;
23. Laisser l'échantillon dans le four pendant un minimum de 16 h ;
24. Placer l'échantillon dans le dessiccateur, le laisser au minimum 1 h ;
25. Peser l'échantillon après refroidissement dans le dessiccateur ;
26. Noter le poids creuset + cendres ;
27. Remettre l'échantillon dans le four à 550 °C pour environ 2 h ;
28. Répéter les opérations 9 à 11 ;
29. Si le poids entre la première pesée et la deuxième est constant (différence de 5 mg au maximum) passer aux calculs, sinon refaire les étapes 12 et 13 jusqu'à ce que le poids soit constant.

CALCULS

1. Calcul du % d'eau

$$\% \text{ d'eau} = [(a-c)-(b-c)]/(a-c) \times 100$$

Où, a = poids initial (g) du creuset + échantillon humide

b = poids final (g) du creuset + échantillons sec

c = poids du creuset vide

2. Calcul du % des cendres

$$\% \text{ Cendres} = [(a - c)/(b - c)] \times 100$$

Où, a = poids final (g) du creuset + cendres

b = poids initial (g) du creuset + résidu (séché à 105 °C)

c = poids (g) du creuset vide

3. Calcul du % de la matière organique

$$\% \text{ matière organique} = 100 - \% \text{ cendres (calculé dans 2)}$$

Notes :

- Les poids sont notés à 0.0001 g près.
- Les creusets ne doivent pas être manipulés à mains nues.
- Les manipulations dans le four à 550 °C se font à l'aide de gants de protection contre la chaleur et d'une paire de pinces à long manche.
- Avant de mettre l'échantillon dans le four à 550 °C, il est préférable de maintenir la température de celui-ci à 375 °C pendant 1 h. Ensuite mettre l'échantillon. Dans notre cas le four n'est pas réglable, donc il nous est impossible d'obtenir un profil de température.

Références

ASTM D2974 1988 (Soil Sampling and Methods of Analysis. M.R. Carter (Ed)
Canadian Society of Science.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PSO-A5	Pages: 4
Version: 2/2	Date: 28-02-00

<p>Auteur (s): Sandra Estrela</p> <p>Approuvé par:</p> <p>Manon Leduc</p>	<p>Signatures:</p> <hr/> <hr/> <p>Date: ____ / ____ / ____</p> <hr/>
<p>II.6 Détermination du pH d'un sol à l'aide d'un pH-mètre</p> <p>Mots clés: pH, sol, acidité, alcalinité, ASTM-4972-95a, électrode, pH-mètre, ACCUMET</p>	

I. DOMAINE D'APPLICATION

Ce protocole s'applique à tous les types de sols dont on cherche à mesurer le pH au laboratoire.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Cette méthode se base sur la norme ASTM D-4972-5a. Elle permet d'évaluer le degré d'acidité ou d'alcalinité d'un sol en mesurant le pH d'une suspension aqueuse de ce sol (ratio 1:1) à l'aide d'un pH-mètre conventionnel. Pour plus de détails sur la théorie générale du pH de même que sur la théorie générale du fonctionnement du pH-mètre, consulter le PSO EJ intitulé : Instructions pour l'utilisation du pH-mètre ACCUMET, modèle 25 (ORION) avec une électrode de type ROS~ SURE-FLOWM (ORION).

3. MATÉRIEL

1. Balance (précision : ± 0.01 g);
2. Tamis #10 (2 mm);
3. Agitateur de type VORTEX;
4. Tubes à centrifugation (50 ml) stériles avec bouchons;
5. Échantillon de sol (minimum de 10 g);
6. Eau distillée;
7. Pipettes de 10 ml;
8. Poire;
9. Spatule en acier inox;
10. Coupelle de plastique;
11. Becher de 50 ml;
12. Mortier et pilon (facultatif);
13. Matériel du PSO E3 intitulé: Instructions pour l'utilisation du pH-mètre ACCUMET, modèle 25 ORION) avec une électrode de type ROS SURE-FLOWM (ORION).

4. MODE OPÉRATOIRE

1. Bien homogénéiser l'échantillon de sol à l'étude avec l'aide d'une spatule en acier inox;
2. Dans une coupelle de plastique, laisser sécher à l'air libre une quantité suffisante de sol pendant une nuit soit, plus de 10 9 pour chaque mesure de pH;
3. Si nécessaire, une fois le sol séché, le tamiser à travers un tamis numéro 10 (2 mm). Passer le sol au mortier et pilon;
4. Calibrer la balance (voir PSO E1);
5. Peser 10.00 9 de sol tamise dans un tube de centrifugation de 50 ml. Utiliser un bécher de 50 ml pour tenir le tube droit sur la balance pendant la pesée;
6. Ajouter 10 ml d'eau distillée à l'aide d'une pipette de 10 ml au tube contenant l'échantillon de sol;
7. Boucher le tube puis le passer au VORTEX pendant une minute;
8. Laisser reposer la solution pendant une heure;
9. Calibrer le pH-mètre (voir PSO E3);
10. Lire le pH tel qu'indiqué au PSO E3 en prenant soin d'immerger la membrane en verre et le pont salin poreux de l'électrode dans le surnageant sans mettre en contact l'électrode avec les particules de sol;
- 11 Noter la température de l'échantillon au moment de la lecture du pH

5. CALCULS

Ne s'applique pas à ce protocole

6. LIMITES DE LA MÉTHODE

Selon cette méthode, la déviation standard est de 0.031 unité de pH. Ainsi, deux répliqués

ne devraient pas différer de plus de 0.065 unité de pH. Cette méthode ne s'applique qu'aux sols ayant des particules de grosseur inférieure à 2 mm.

7. RÉFÉRENCES

ASTM D4972-95a

8. NOTES

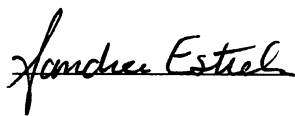
Bien lire les recommandations du PSO E3;

Il est important de vérifier le pH de l'eau distillée. Si le pH n'est pas de 7 (plus acide, <7), faire buller de l'air pendant quelques minutes dans l'eau distillée pour tenter d'éliminer le CO₂ et ramener le pH à 7;

Il est possible de déterminer le pH d'un sol en utilisant une solution de chlorure de calcium à 0.01 M au lieu de l'eau (ASTM D 4972-95a méthode avec chlorure de calcium). Cette dernière méthode génère une valeur de pH inférieure à celle trouvée avec l'eau étant donné que la solution de chlorure de calcium relargue plus d'ions d'aluminium qui sont hydrolysés;

La solution de sol devrait être à la même température que celle des solutions ayant été utilisées pour la calibration du pH-mètre.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PSO-A7	Pages: 5
Version: 1/1	Date: 05-04-00

<p>Auteur (s): Sandra Estrela</p> <p>Approuvé par:</p> <p>Manon Leduc</p>	<p>Signatures:</p>  <hr/> <p>Date: ____ / ____ / ____</p>
<p>II.7 Détermination du poids sec d'un sol</p> <p>Mots clés: poids sec, pourcentage ou taux d'humidité, pourcentage ou taux d'eau, sol, caractérisation physique</p>	

1. DOMAINE D'APPLICATION

Ce protocole s'applique aux sols organiques et inorganiques, roches et matériaux similaires.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le poids sec (aussi nommé % d'eau ou d'humidité) est déterminé par séchage à 105 (sols

organiques et tourbe) ou 110°C (autres sols et roches), jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. Le contenu en eau de l'échantillon à l'étude est alors considéré

comme étant le ratio, exprimé en pourcentage, de la masse d'eau « libre » ou « contenue dans les pores » sur la masse d'échantillon original.

3. MATÉRIEL

1. Four réglable à une température constante et uniforme de 105 et 110 ± 5 ° C;
2. Balance analytique de précision de 0.0001 g;
3. Coupelles d'aluminium;
4. Dessicateur;
5. Dessicant (drierite = sulfate de calcium anhydre);
6. Gants ou pinces propres (pour manipuler les coupelles);
7. Matériel de prélèvement des échantillons (spatule, cuillère ou couteau selon les besoins).

4. MODE OPÉRATOIRE

Il est fortement recommandé d'effectuer au moins des duplicatas lors de l'analyse du taux

d'humidité de chacun des échantillons.

1. La pesée d'échantillon doit se faire dans une coupelle préalablement séchée. Pour ce faire, 2 options sont possibles : 1) Déposer les coupelles vides préalablement

identifiées (initiales, date et numéro d'échantillon) dans le dessicateur suffisamment longtemps (la nuit) afin de les sécher ou 2) Déposer les coupelles préalablement identifiées au four à 105°C (apporter le dessicateur près des balances pour éviter d'humidifier les coupelles). Dans ce cas, la coupelle doit être ramenée à la température de la pièce avant la pesée de l'échantillon (1 heure dans le dessicateur);

2. Calibrer la balance selon le PSO E2;
3. Déposer la coupelle sèche sur la balance et noter le poids (PC);
4. Bien homogénéiser l'échantillon de sol à l'étude;
5. Sans remettre la balance à 0, ajouter environ 5 g de l'échantillon humide à l'étude dans la coupelle en prenant soin de prendre un échantillon représentatif (voir section NOTES pour les recommandations concernant les prélèvements) et noter le poids (PH);
6. Mettre au four la coupelle contenant l'échantillon humide et sécher au four à 105°C (sol organique ou tourbe) ou 110°C (autre type de sol ou roches) pendant environ 16 h (minimum) ou jusqu'à ce que la masse soit constante (attendre au moins 1 h entre chaque pesée);
7. Refroidir au dessicateur à température ambiante, en s'assurant de ne pas réhumidifier l'échantillon (apporter le dessicateur près du four);
8. Calibrer à nouveau la balance selon le PSOE2;
9. Peser la coupelle contenant l'échantillon maintenant sec (apporter de nouveau le dessicateur près des balances) et noter le poids (PS);
10. Disposer des échantillons.

5. CALCULS

Le taux d'humidité de l'échantillon est calculé selon l'une des deux équations suivantes :

$$\% \text{ d'eau} = (PH-PC)-(PS-PC)*100 \text{ (équation 1.0)}$$

$$(PH-PC)$$

où

% d'eau = $(PH-PC)-(PS-PC)*100$ (équation 2.0)

(PS-PC)

où PC: poids coupelle sèche (g)

PH: poids coupelle + échantillon humide (g)

PS: poids coupelle + échantillon sec (g)

L'équation 1.0 est couramment utilisée en environnement. Elle indique le % d'humidité de l'échantillon en fonction du poids humide alors que la seconde indique le % d'humidité de l'échantillon en fonction du poids sec de ce dernier (plus utilisée dans le domaine géotechnique). Il faut toujours indiquer clairement si vous utilisez le % par rapport au poids sec ou au poids humide. Pour un même utilisateur, les duplicatas d'échantillon ne devraient pas différer de plus de 7.8% de la moyenne des échantillons.

6. LIMITE(S) DE LA MÉTHODE

Cette méthode s'applique aux échantillons de moins de 200 g.

7. RÉFÉRENCE(S)

ASTM D2216-92, ASTM D2974-87

8. NOTE(S)

8.1 Prélèvement d'un échantillon représentatif

- Pour favoriser l'homogénéisation de l'échantillon, bien mélanger ce dernier avant le prélèvement et prélever environ 5 portions réparties en différents endroits de l'échantillon;
- Éviter de prélever des portions en contact avec les parois du contenant où se trouve l'échantillon car ces portions risquent d'être plus humides étant donné la condensation sur les parois;

8.2 Pesée de l'échantillon

- Les balances analytiques sont très sensibles aux courants de convection générés par la chaleur. Toujours vous assurer que l'échantillon à peser est à température de la pièce;
- Dans les méthodes ASTM, on recommande de prendre un minimum de 20 g d'échantillon toutefois, ceci peut être compensé par l'utilisation de duplicatas et triplicatas. Toujours prendre en note la quantité d'échantillon pesée;
- Pour un échantillon de roches, une quantité d'au moins 500 g est recommandée par l'ASTM;


8.3 Séchage de l'échantillon au four

- Attention lors du séchage de sol contaminé au four. Assurez-vous qu'il n'y a pas de dégagement gazeux néfaste pour la santé;
- La température de 105°C est très importante en ce qui a trait aux sols organiques. En effet, une température plus élevée pourrait entraîner une décomposition de l'échantillon. Si le contenu en matière organique de votre échantillon n'est pas connu, effectuer le séchage à 105°C;
- Les matériaux contenant du gypse (sulfate de calcium dihydraté) ou un très haut taux de matière organique peuvent être problématiques lors de la détermination du taux d'humidité. En effet, ces matériaux ont tendance à se dessécher au four ou à des % d'humidité très faibles telles que les conditions d'un dessiccateur. Pour ce genre de matériau, il serait préférable de sécher préalablement l'échantillon à 60°C avant la pesée (ne pas oublier de ramener l'échantillon à température de la pièce). Prendre en note toute modification à la méthode standard dans ce cas;
- Si après une nuit au four l'échantillon semble toujours humide, prolonger la période de chauffage;

8.4 Utilisation du dessiccateur

- Deux dessicateurs sont à votre disponibilité. Lorsque vous devez déplacer le dessicateur (lorsque vous allez chercher vos échantillons au four, par exemple), veuillez utiliser le dessicateur noté MOBILE;
- Il est possible de laisser refroidir les échantillons secs sur le comptoir si on utilise des couvercles étanches;
- Toujours s'assurer que le dessicant est sec avant d'utiliser le dessicateur, en cas de doute, faire sécher au four le dessicant sur un plateau.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PA23	Pages: 4
Version: 1/1	Date: 01-01-02

Auteur (s): Manon Leduc	Signatures: 
	Date: ____ / ____ / ____
II.8 Capacité de rétention d'eau au champ d'un échantillon de sol Mots clés: eau, sol, capacité, rétention	

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode convient pour un sol de composition médiane en argile et en matière organique.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Traduction et adaptation de la méthode de la détermination de la Capacité de la Rétention au Champ (Water-Holding Capacity, WHC) pour un échantillon de sol selon Martin R. Carter, Canadian Society of Soil Science, S 593 S 66 1993. La méthode consiste en un trempage et un drainage, le sol est suspendu dans de l'eau pendant trente minutes. Ceci est suivi d'une filtration par gravité. Le résultat représente la quantité maximale d'eau retenue par gramme de sol sec.

3. MATÉRIEL

- 1 échantillon de sol suffisamment gros 100g ou 250ml
- 400ml d'eau distillée
- 2 béchers de 600ml
- Balances précision de 0.01g et 0.0001g
- 1 Spatule en acier inoxydable
- 1 Plaque chauffante
- 1 thermomètre pouvant atteindre 100°C
- 1 tige de verre
- 1 minuteur
- 1 support à entonnoir
- 1 entonnoir Buchner Coors No 60240
- 1 papier filtre Whatman GF/C de 47mm
- 3 coupelles préalablement identifiées, séchées et pesées 0.0001g
- four 105°C
- dessicateur

4. MODE OPÉRATOIRE

1. Dans un bécher de 600ml peser 100g à 0.01g près de sol ou additionner un volume maximal de 250 ml de sol.
2. Dans un autre bécher de 600ml chauffer 400ml d'eau distillée à 70°C.
3. Ajouter au bécher contenant le sol suffisamment d'eau pour produire une suspension.
4. Agiter à l'aide d'une tige de verre pendant 1 à 2 minutes.
5. Laisser reposer la suspension pendant 30 minutes.
6. Agiter de nouveau de 1 à 2 minutes pour chasser les bulles d'air emprisonnées.
7. Sur un support à entonnoir installer un entonnoir Buchner Coors No 60240 muni d'un filtre de papier Whatman GF/C de 47mm de diamètre, placer un bécher de 600ml sous le Buchner pour recueillir l'eau de la filtration.
8. Transvaser la suspension sur le filtre dans le Buchner.
9. Attendre la fin de la filtration, c'est-à-dire la dernière goutte passante (quelques minutes à plusieurs heures d'attente selon la composition du sol).
10. Prélever 3 portions de sol saturé en eau au-dessus du filtre à l'aide d'une spatule et les déposer dans des coupelles préalablement identifier et peser 0.0001g (P1).
11. Immédiatement peser (0.0001g) les coupelles contenant le sol saturé en eau (P2).
12. Sécher le sol au four à 105 °C pendant 16h.
13. Refroidir au dessiccateur pendant 30 minutes.
14. Peser (0.0001g) les coupelles avec le sol sec (P3).

5. CALCULS

Capacité de Rétention au Champ par gramme se sol sec (CRCss).

$$\text{CRCss} = (P2 - P1) - (P3 - P1) / (P3 - P1) \text{ g d'eau / g de sol sec}$$

P1 = poids de la coupelle (g)

P2 = poids du sol saturé en eau (g)

P3 = poids du sol sec (g)

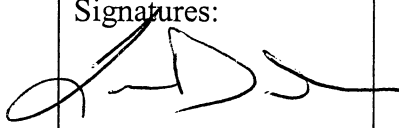
6. LIMITE(S) DE LA MÉTHODE

1. Ce test n'est pas réalisable pour les sols trop argileux.
2. Le séchage de l'échantillon à 105°C (étape 4. 12.) peut surestimer le contenu en eau, car une température de séchage supérieure à 85°C peut provoquer la perte de matière organique dans certains sols.
3. Une difficulté de la méthode est la détermination de la fin de la filtration, à quel intervalle entre deux gouttes le drainage devient-il négligeable?
4. Le résultat représente l'affinité du sol pour retenir l'eau dans les conditions auxquelles le sol est soumis à l'analyse : ex : remanié, tamisé, séché, etc.
5. Pour un échantillon de taille différente utiliser un entonnoir Buchner et un filtre qui permettent de prélever le sol mouillé à l'aide d'une spatule en préservant l'intégrité de la portion de sol saturé en eau (étape 4. 10.).

7. RÉFÉRENCE(S)

Martin R. Carter, Canadian Society of Soil Science, Cote S593 S 66 1993.

PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PSO-A12	Pages: 8
Version: 1/1	Date: 28-08-96

<p>Auteur (s): Pascale Picard</p> <p>Approuvé par: Manon Leduc</p>	<p>Signatures:</p>  <hr/> <hr/> <hr/> <p>Date: ____ / ____ / ____</p>
<p>II.9 Dénombrement des micro-organismes hétérotrophes par la méthode du nombre le plus probable (NPP)</p> <p>Mots clés: Dénombrement, NPP, hétérotrophes</p>	

1. Domaine d'application

Cette méthode de dénombrement s'applique à toute substance pouvant contenir des micro-organismes (ex. échantillons de sols et d'eaux).

2. Principes de la méthode

Il s'agit d'une estimation de la densité moyenne de micro-organismes hétérotrophes dans un échantillon donné, par un test statistique. L'échantillon est dilué en série, et des aliquots de chaque dilution sont incubés dans un milieu de croissance dans des tubes. Il y a croissance dans les tubes d'incubation lorsqu'un organisme ou plus sont présents. Le nombre de micro-organismes hétérotrophes dans l'échantillon est déterminé d'après le nombre de tubes où il y a eu croissance pour chaque dilution et en se servant des tables de l'index NPP.

3. Matériel

- solution saline 0.85 % dans l'eau distillée, soit NaCl 8.5 g/L
- Nutrient Broth (Becton Dickinson, MD, USA)
- eau distillée (pH 7)
- bouteilles à dilution de 150 mL (1 par dilution), et bouchons
- tubes de verre à bouchon vissé de 15 mL (5 par dilution + 2 pour les contrôles) et bouchons
- pipettes stériles de 10 mL
- vortex
- dispensettes 10 et 25 mL (dispensette 25 mL à emprunter au local A-660.1)
- micropipette 1000 μ L
- embouts à micropipette stériles

Pour un dénombrement sur un échantillon de sol, il faut en plus :

- matériel pour déterminer le taux d'humidité (pso A7)
- 30 billes de verre de 3 mm de diamètre (glass beads solids, Fisher) par échantillon

- une cupule en aluminium et deux spatules par échantillon
- agitateur Wrist Action (Burrel, PA, USA)
- balance (Mettler Toledo PB302)
- éthanol 70%

4. Mode Opérateur

Un schéma opératoire est présenté en annexe.

4.1 Choix du nombre de dilutions

Si la densité de micro-organismes dans l'échantillon est inconnue, il faudra effectuer 7 dilutions de la suspension primaire (donc 8 bouteilles à dilution identifiées 10^0 à 10^{-7} , et 5x8 tubes identifiés de 10^{-1} à 10^{-8} plus 2 tubes de contrôle). Si la plage de densité microbienne est connue, il est possible de n'effectuer que trois dilutions pour obtenir le NPP.

4.2 Préparation des tubes

- 1- prendre 5 tubes par dilution souhaitée plus 2 tubes pour les contrôles
- 2- préparer une solution de Nutrient Broth 8 g/L dans de l'eau distillée
- 3- placer 9 mL de cette solution dans chaque tube à l'aide de la dispensette de 10 mL. Calibrer avant la dispensette avec un cylindre de 10 mL.
- 4- ajouter 1 mL de solution saline 0.85% dans chacun des 2 tubes de contrôle
- 5- vérifier le pH dans les tubes de contrôle, il doit être de 7.0 ± 0.2
- 6- fermer les tubes, les autoclaver 20 minutes (121°C , 103.4 kPa) et les laisser refroidir
- 7- identifier les tubes (on peut identifier avant autoclavage mais le feutre s'efface)

4.3 Préparation des dilutions en série

Pour un échantillon de sol

- 1- déterminer le taux d'humidité du sol (voir pso A7)
 - 2- préparer la bouteille pour la suspension primaire (dilution 100): mettre 95 mL de solution saline avec la dispensette 25 mL dans la bouteille identifiée 100, et ajouter 30 billes de verre. On peut aussi mettre les 95 mL en remplissant un ballon jaugé de 100 mL et en enlevant 5 mL à la pipette.
 - 3- mettre 90 mL de solution saline dans chaque autre bouteille.
 - 4- fermer et autoclaver toutes les bouteilles pendant 20 minutes (121 °C, 103.4 kPa); les laisser refroidir
 - 5- identifier les bouteilles (100, 10-1, ...)
- travailler dès maintenant en conditions stériles- passer les goulots des tubes et des bouteilles à la flamme après ouverture et avant fermeture
- 6- stérilisation du matériel : placer une cupule en aluminium et deux spatules sous la hotte laminaire, et actionner la lumière UV pendant 10 minutes
 - 7- mettre en place la balance sous la hotte (lumière normale), ajuster son niveau et la calibrer (voir pso E1). Nettoyer le plateau de la balance avec de l'éthanol 70%
 - 8- peser approximativement 10 g de sol (noter le poids exact) dans la cupule
 - 9- ajouter tout le contenu de la cupule dans la bouteille de dilution 100 avec l'autre spatule. Si le sol est difficile à décoller de la cupule et de la spatule, rincer la cupule et la spatule avec un peu de solution de la bouteille
 - 10- agiter la bouteille au Wrist Action pendant 30 minutes
 - 11- préparer les dilutions successives :
 - ouvrir la bouteille identifiée 10-1 et passer le goulot à la flamme
 - brasser manuellement la bouteille 100 pendant 10 secondes, ouvrir, passer le goulot à la flamme
 - rebrasser, pipeter 10 mL avec une pipette neuve et les placer dans la bouteille identifiée 10-1
 - passer les goulots à la flamme et fermer. La bouteille 10-1 est préparée
 - répéter le point 11 en utilisant la nouvelle dilution préparée comme inoculum, jusqu'à la dernière dilution voulue

Pour un échantillon aqueux

1- mettre 90 mL de solution saline dans chaque bouteille de 150 mL avec la dispensette 25 mL, ou bien avec un ballon jaugé à 100 mL auquel on aura enlevé 10 mL à la pipette

2- fermer, autoclaver pendant 20 minutes (121 °C, 103.4 kPa) et laisser refroidir

3- identifier les bouteilles de 150 mL (10-1, 10-2, ...). La suspension primaire, soit la dilution 100, correspond à l'échantillon initial à tester. Travailler dès maintenant en conditions stériles- passer les goulots des tubes et des bouteilles à la flamme après ouverture et avant fermeture

4- préparer les dilutions successives:

- ouvrir la bouteille identifiée 10-1 et passer le goulot à la flamme
- brasser manuellement la bouteille 100 pendant 10 secondes, ouvrir, passer le goulot à la flamme
- rebrasser, pipeter 10 mL avec une pipette neuve et les placer dans la bouteille identifiée 10-1
- passer les goulots à la flamme et fermer. La bouteille 10-1 est préparée
- répéter le point 4 en utilisant la nouvelle dilution préparée comme inoculum, jusqu'à la dernière dilution voulue

4.4 Inoculation des tubes

Toujours travailler en conditions stériles- passer les goulots à la flamme

1- brasser la bouteille 100 pendant 10 secondes

- pipeter 1 mL à la micropipette, en continuant de brasser
- placer dans un tube identifié 10-1

Répéter cette opération dans les quatre autres tubes identifiés 10-1 □ on obtient les 5 aliquots de la dilution 10-1.

Évidemment, si la plage de densité de micro-organismes est connue et qu'on n'a pas besoin des tubes 10^{-1} , on ne les fait pas!

2- reboucher les tubes, et les agiter 3 secondes au vortex

3- changer d'embout et répéter les points 1 et 2 avec chaque autre bouteille à dilution : avec la bouteille 10-1 on obtient les 5 tubes 10-2, et ainsi de suite

4- incuber tous les tubes à 30°C, y compris les deux contrôles, pendant 7 jours ou jusqu'à ce que les résultats ne changent plus avec le temps

4.5 Décontamination des tubes après lecture des résultats

Cette étape est obligatoire afin de ne pas infecter le réseau d'égout. Tous les tubes doivent être autoclavés pendant 20 minutes (121°C, 103.4 kPa). Leur contenu refroidi est ensuite jeté à l'évier.

5. Calculs

1- après la période d'incubation, observer chaque tube (l'inverser 2 fois pour mieux observer la présence de turbidité). Si une turbidité est notée, le tube est considéré positif, si il est resté limpide, comme les contrôles, il est considéré négatif. Noter pour chaque dilution le nombre de tubes positifs sur les 5 incubés, sur un tableau récapitulatif (exemple au tableau 5.1).

2- sélectionner la combinaison de positifs : trois dilutions successives sont choisies pour déterminer l'index NPP, de la manière suivante : choisir la plus grande dilution qui donne un résultat positif maximum (5/5 est le maximum, 0/5 le minimum) et les deux dilutions suivantes. Les nombres de tubes positifs pour chacune de ces trois dilutions constituent la combinaison de positifs (voir l'exemple a).

Exception 1: il y a un résultat positif à une dilution plus grande que la dernière choisie par la règle précédente : additionner ce résultat à la dernière dilution, ce qui donne la même combinaison que l'exemple c.

Exception 2 : choisir les trois dilutions de manière à retrouver le résultat positif "maximum" au centre des trois dilutions.

Tableau II.2 Exemple de tableau de résultats

exemples	dilution dans les tubes				combinaison de positifs	Index NPP cellules/100 mL ou 10g/sol
	10-1	10-2	10-3	10-4		
A	5/5*	5/5	2/5	0/5	5-0-2	$50 \cdot 10^2 = 5000$
B	5/5	4/5	2/5	0/5	5-4-2	$220 \cdot 10^1 = 2200$
C	5/5	3/5	2/5	0/5	5-3-2	$140 \cdot 10^1 = 1400$
Exception 1	5/5	3/5	1/5	1/5	5-3-2	$140 \cdot 10^1 = 1400$
Exception 2	0/5	1/5	0/5	0/5	0-1-0	$2 \cdot 10^1 = 20$

* (nombre de tubes positifs)/(nombre de tubesensemencés)

3- noter l'index NPP correspondant à cette combinaison à l'aide de la table 5.2.

4- Multiplier l'index NPP par 10^x , la plus petite dilution de la combinaison de positifs étant 10^{-x} .

exemple a : les dilutions de la combinaison sont 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} . La plus petite dilution est donc 10^{-2} , il faut alors multiplier l'index NPP par 10^{-2} , soit $50 \cdot 10^2 = 5000$. Ce résultat correspond au nombre de micro-organismes hétérotrophes par 100 mL d'échantillon liquide, ou par 10 g de sol pesé (soit le poids exact pesé).

5- On exprime les résultats en fait en nombre de micro-organismes par mL de liquide, ou par g SEC de sol, connaissant le taux d'humidité du sol déterminé en début d'expérience.

6. Limites de la méthode

La précision de la méthode est assez faible, mais elle a l'avantage d'être une méthode statistique. Si un échantillon contient 100 micro-organismes/100 mL, la probabilité que les cinq tubes de dilution 10-1 donnent tous des résultats négatifs (i.e. aucune croissance) est de 1%. Cette méthode tend à surestimer la densité bactérienne réelle. Il

y aura sous-estimation du nombre de micro-organismes si certains facteurs inhibant la croissance de la biomasse sont présents, ou encore si les bouteilles ne sont pas suffisamment brassées pour homogénéiser les différentes dilutions avant l'inoculation dans les tubes.

7. Références

APHA, AWWA, WEF, ed., 1992. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 18th edition.

Cochran W. G., 1950. Estimation of bacterial density by means of the «most probable number», Biometrics, june 1950.

8. Notes

Autoclavage des tubes et des bouteilles : on peut ne pas visser complètement les bouchons et les fermer correctement à la sortie de l'autoclave, mais il y a un risque d'évaporation durant l'autoclavage. Si au contraire les bouchons sont bien fermés, il y a un risque de bris. Le mieux est de choisir une fois pour toutes une des 2 méthodes et de l'appliquer constamment. Une méthode encore meilleure serait d'autoclaver les tubes et bouteilles vides et de les remplir stérilement avec les solutions autoclavées à part. Cependant, la dispensette ne s'autoclave pas, ce qui rend le remplissage à la pipette fastidieux! Le délai standard entre le recueillement d'un échantillon aqueux sur le site et l'analyse est idéalement inférieure à 30 heures, en conservant l'échantillon à 4°C. L'extraction des micro-organismes du sol dans la suspension primaire peut nécessiter un temps d'agitation supérieur à 30 minutes si les micro-organismes sont très attachés (par ex. sur un sol argileux). Il arrive que la croissance soit rapide et qu'une lecture puisse s'effectuer après 48 heures d'incubation. Cependant, il est préférable de confirmer ce résultat en faisant une nouvelle lecture après les 7 jours d'incubation. La méthode est réalisable avec 3 tubes par dilution au lieu de 5, mais la précision en est affectée (voir pour plus de détails «Standard Methods for the

examination of Water and Wastewater). De plus la table d'index est différente de celle indiquée dans ce protocole.

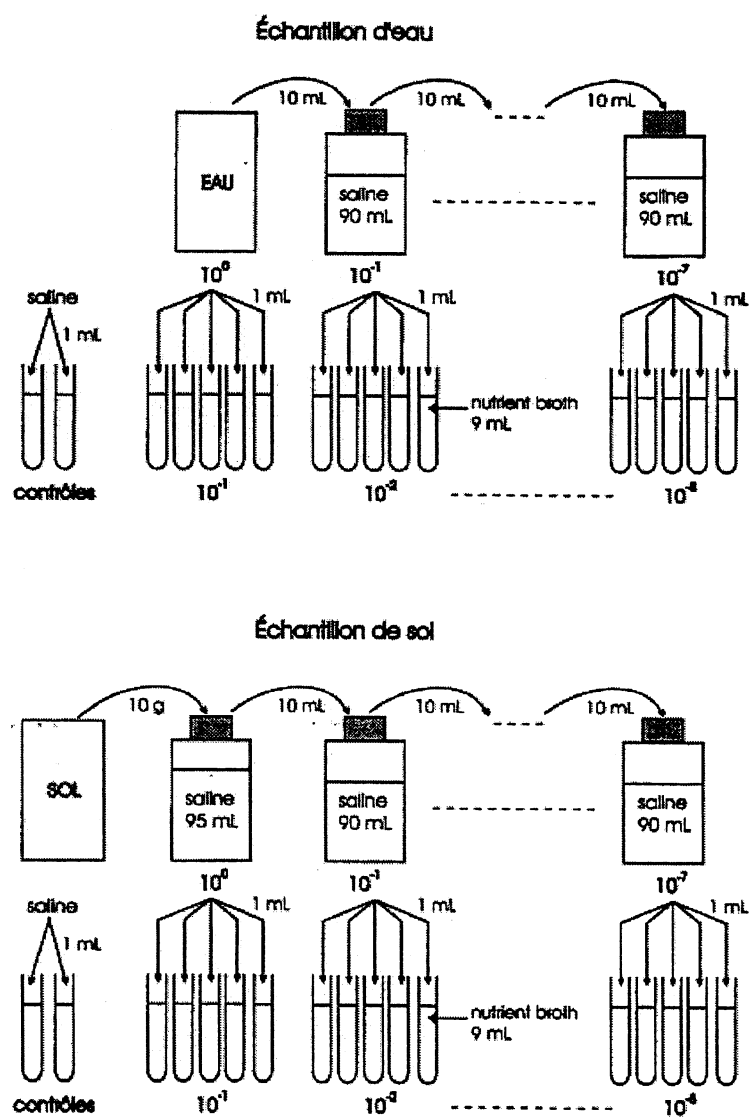



Figure II.2 : Schéma opératoire

		PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole # :PE 59E		Nombre de pages : 4	
Version 1		Date: 30 août 2003	
Auteur(s): Catherine Daoust			
Approuvé par : Louise Deschênes _____ _____		Signatures : _____ Date : 3 août 2004	

II.10 Vieillissement de sols contaminés en laboratoire suivant des cycles de mouillage-séchage

Mots clés : mouillage, séchage, capacité de rétention au champ

1. OBJECTIFS

Afin de simuler les conditions naturelles de précipitations, on fait subir au sol des cycles mouillage-séchage. En faisant varier les conditions d'humidité, plusieurs caractéristiques du sol varient tel que le potentiel d'oxydo-réduction et la mobilité. La plupart des expériences réalisées avec des cycles mouillage-séchage sont attribuées à la mécanique des sols. Parmi les études effectuées en géochimie, notons (Banin, 2001), (White, 1998), (Zagury, 1997).

2. MATÉRIEL

- eau déionisée
- matériel pour mesurer la capacité de rétention au champ (PSOxx)
- cuillères en Teflon
- cylindres gradués de 500ml et 250ml

3. MÉTHODOLOGIE

- 1) Mesurer la capacité de rétention au champ de chacun des sols étudiés.
- 2) Évaluer la quantité de micro-organismes présents dans les sols
- 3) Réaliser les étapes suivantes de mouillage et séchage à chacun des cycles (14 jours).

JOUR 1 :

- 1) Mélanger le sol à l'aide d'une cuillère en Teflon;
- 2) Mesurer le pH (duplicata);
- 3) Déterminer la teneur en solides volatils à 550 C (PSO xx);

** 3) Prélever 35 g ($3 \times 3 + 4 \times 3 + 9 \times 1,5$ g) de chacun des sols afin d'effectuer les extractions simples du métal en parallèle (soluble,

soluble et échangeable et total) selon la méthode PE 59 D (inclut le poids sec);

4) Peser le sol restant dans la chaudière;

5) Mouillage : Verser une quantité d'eau égale à la capacité de rétention du sol dans chacun des sols (voir tableau 1);

6) Fermer le couvercle des chaudières;

JOUR 3 : Ouvrir les couvercles;

JOUR 14 : Effectuer une mesure de poids sec (PSOA7);

** Cette étape n'est pas réalisée à tous les cycles.

Tableau 1 : Volume d'eau à ajouter (% du poids sec)

A8	B8	C8	D8	E8
21,4	32,2	181,3	173,8	100,8

4. RÉFÉRENCES

BANIN et al. (2001), "Redistribution of Heavy Metals in Arid-zone Soils under a Wetting-drying Soil Moisture Regime", Soil Science, vol. 166, no1, pp.18-28.

WHITE et al. (1998), "Effect of Wetting and Drying on the bioavailability of organic compounds sequestered in soil", Environmental Toxicology and Chemistry, vol.17, no.12, pp. 2378-2382.

ZAGURY et al. (1997), « Stabilisation des résidus acides miniers par des résidus alcalins d'usines de pâtes et papiers », Environmental Technology, vol. 18, pp.959-973.

ANNEXE III : Caractéristiques des constituants des sols

III.1 Argile

ORIGINE : Drummondville, Qc

MÉTHODE : Digestion HNO_3 , HClO_4 , HF
ICP-AES (MA 200-Mét. 1.0)

métaux	réplicat 1	réplicat 2	moyenne
Al (mg/kg sec)	49352	53691	51521
Fe (mg/kg sec)	54432	55142	54787
Mn (mg/kg sec)	798	798	798
Cu (mg/kg sec)	45,7	45,0	45,4

MÉTHODE: Sodium Acetate (Chapman, 1965)

CEC (meq/100g résidu sec)	32,0	35,3	33,7
---------------------------	------	------	------

MÉTHODE : D-4972-95a (ASTM, 2000)

pH	7,78	7,84	7,81
----	------	------	------

Granulométrie c.f. figure III.1

III.2 Limon

ORIGINE: Saint-Hilaire, Qc

MÉTHODE : Digestion HNO_3 , HClO_4 , HF
ICP-AES (MA 200-Mét. 1.0)

métaux	réplicat 1	réplicat 2	moyenne
Al (mg/kg sec)	53370	47269	50320
Fe (mg/kg sec)	29111	29196	29153
Mn (mg/kg sec)	506	508	507
Cu (mg/kg sec)	22,2	22,9	22,6

MÉTHODE: Sodium Acetate (Chapman, 1965)

CEC (meq/100 g sec)	14,0	11,5	12,7
---------------------	------	------	------

MÉTHODE : D-4972-95a (ASTM, 2000)

pH	7,7	7,61	7,66
----	-----	------	------

Granulométrie c.f. figure III.2

III.3 Sable

TYPE DE SABLE: Standard sand C-109

MÉTHODE : Digestion HNO_3 , HClO_4 , HF
ICP-AES (MA 200-Mét. 1.0)

	1	2	moyenne
	(mg/L)	(mg/L)	
Al (mg/kg sec)	89,6	85,7	87,7

Fe (mg/kg sec)	41,4	35,7	38,5
Mn (mg/kg sec)	1,2	1,9	1,6
Cu (mg/kg sec)	0,7	0,7	0,7
<hr/>			
MÉTHODE: Sodium Acetate (Chapman, 1965)			
CEC (meq/100g sec)	8,6	5,0	6,8
<hr/>			
MÉTHODE : D-4972-95a (ASTM, 2000)			
pH	7,97	7,71	7,84

III.4 Tourbe

TYPE DE TOURBE: Canadian Sphagnum Peat Moss

MÉTHODE : Digestion HNO ₃ , HClO ₄ , HF			
ICP-AES (MA 200-Mét. 1.0)			
métaux	réplicat 1	réplicat 2	moyenne
Al (mg/kg sec)	398	470	434
Fe (mg/kg sec)	544	582	563
Mn (mg/kg sec)	14,6	14,4	14,5
Cu (mg/kg sec)	1,5	1,6	1,6
<hr/>			
CEC (meq/100g sec)	300,0	347,6	323,8
<hr/>			
MÉTHODE : D-4972-95a (ASTM, 2000)			
pH	4,28	4,23	4,26

tamissage	< 2mm
-----------	-------

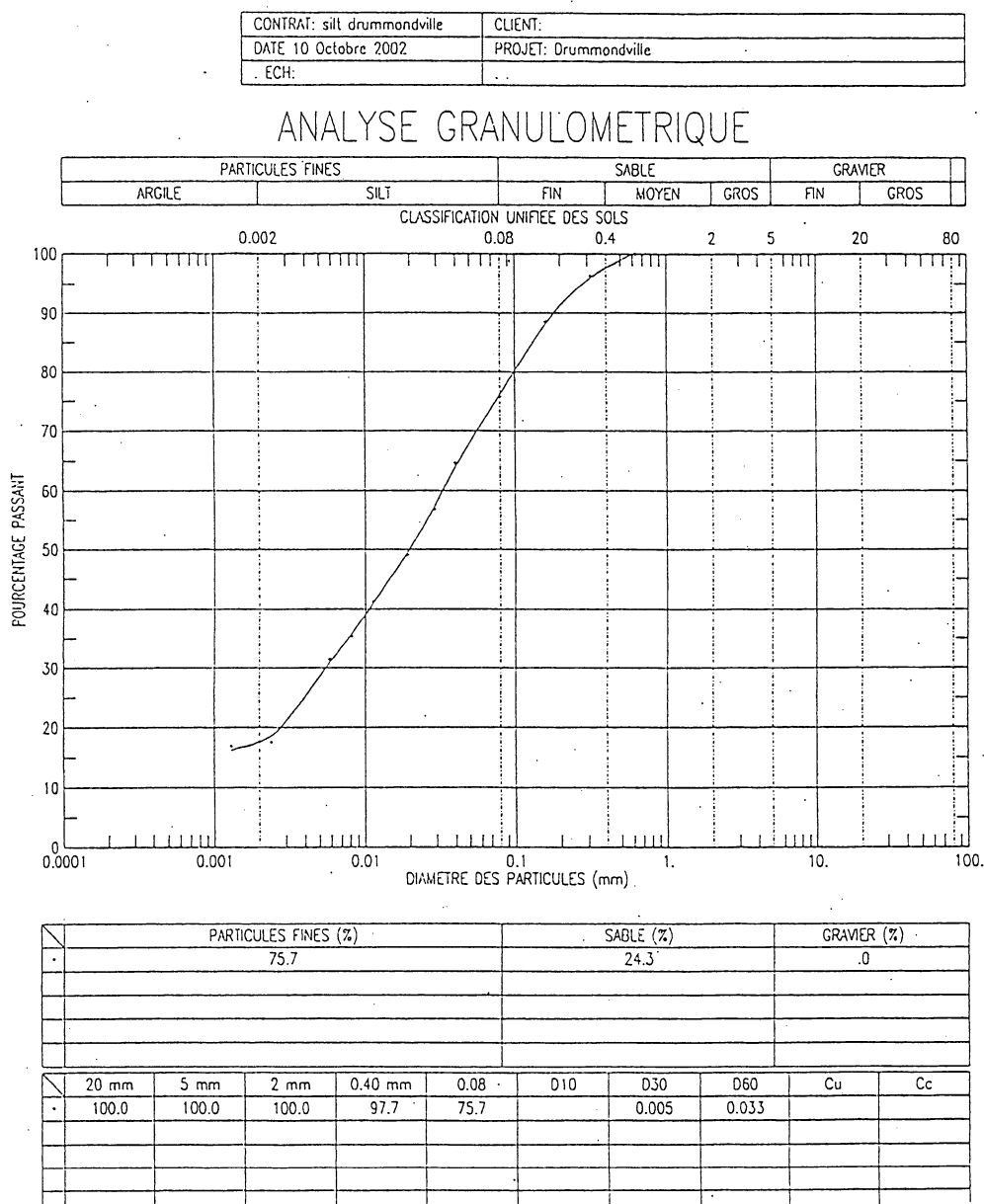
MÉTHODE : Extraction alcaline (Anderson and Schoenau, 1993)

débris (%)	4,56	5,54	5
humines (%)	74,47	73,06	74 ±1,8
acides humiques HA(%)	20,58	18,02	19,3 ± 13,2
acides fulviques FA (%)			1,9

% FA (calculées par différence) = 100 - % debris (moyenne) - %acides humiques (moyenne)

-% humines (moyenne)

Figure III.2 : Courbe granulométrique du limon



ANNEXE IV: Résultats expérimentaux bruts

IV. 1 Caractéristiques des sols

sol	rép ¹	pH	pH témoin	CEC (meq/ 100g)	Solides volatils (%)	DOC (mg/g)	Capacité de rétention (% eau/sol)	Hétérotrophes totaux (cell/g)
A1	1	5,49	6,06	12,66	1,5	0,119	--	--
A1	2		5,91	9,43		0,112	--	--
A1	3			10,59		0,100	--	--
B1	1	5,59		23,53	2,7	0,067	--	--
B1	2	5,56		22,92		0,064	--	--
B1	3			22,82		0,062	--	--
C1	1	5,33	6,18	92,83	28,7	0,785	--	--
C1	2	5,70	6,18	76,71		1,034	--	--
C1	3			84,41		0,979	--	--
D1	1	5,62	5,75	84,94	28,4	0,690	--	--
D1	2	5,62	5,82	95,00		0,740	--	--
D1	3			80,06		0,709	--	--
E1	1	5,68	5,87	48,10	15,5	0,311	--	--
E1	2	5,69	5,92	51,37		0,296	--	--
E1	3			52,56		0,271	--	--
A2	1	7,34	7,47	6,55	1,5	0,33	21	415
A2	2	7,44	7,35	6,45	1,9	0,22	22	
A2	3					0,28		
B2	1	7,43	7,59	16,03	2,7	0,21	33,6	3052

¹ Les réplicats de chacun des tests ne sont pas reliés entre eux.

B2	2	7,33	7,62	15,52	2,9	0,20	30,8	
B2	3					0,20		
C2	1	7,66	7,44	86,01	28,0	1,25	180,8	826474
C2	2	7,47	7,23	82,01	27,2	1,26	181,9	
C2	3					1,24		
D2	1	7,56	7,6	80,97	35,2	1,67	190,2	22679
D2	2	7,41	7,49	89,16	31,1	1,77	157,4	
D2	3					1,66		
E2	1	7,37	7,4	52,12	14,4	0,60	92,5	24078
E2	2	7,41	7,58	53,3	14,5	0,54	109,2	
E2	3					0,49		

IV.2 Extractions chimiques

a) Fraction soluble (eau déionisée)

Cu					
SOL	réplicats	(mg/L)	Cu (mg/kg sol)	moyenne	Écart-type
A1	1	160,0	1575,1	1601,4	28,5
A1	2	160,0	1631,6		
A1	3	160,0	1597,3		
B1	1	23,0	224,6	221,1	4,2
B1	2	21,0	216,5		
B1	3	22,0	222,1		
C1	1	7,1	71,6	79,8	7,3
C1	2	7,5	82,0		
C1	3	8,0	85,7		
D1	1	11,0	122,9	114,3	8,4
D1	2	10,0	106,2		
D1	3	10,0	113,9		
E5	1	16,0	181,4	178,0	2,9
E5	2	16,0	176,3		
E5	3	16,0	176,4		
A2	1	0,44	4,45	4,6	0,5
A2	2	0,5	5,06		
A2	3	0,41	4,14		
B2	1	0,11	1,13	1,8	0,7
B2	2	0,25	2,5673		
B2	3	0,17	1,7506		

C2	1	0,31	3,23	2,7	0,4
C2	2	0,23	2,39		
C2	3	0,25	2,60		
D2	1	0,53	5,49	5,6	0,2
D2	2	0,53	5,49		
D2	3	0,57	5,90		
E2	1	0,29	3,02	3,1	0,5
E2	2	0,25	2,59		
E2	3	0,35	3,63		

b) Fraction soluble et échangeable (CaCl₂ 0.5M)

SOL	réplicat	Cu (mg/L)	Cu CaCl ₂ (mg/kg sol)	moyenne	Écart-type
A1	1	230,0000	2192,1	1958,0	326,1
A1	2	220,0000	2096,5		
A1	3	160,0000	1585,5		
B1	1	57,0000	607,2	575,8	28,0
B1	2	55,0000	553,5		
B1	3	54,0000	566,8		
C1	1	55,0000	566,0	568,9	6,6
C1	2	54,0000	564,2		
C1	3	55,0000	576,4		
D1	1	62,0000	688,1	647,2	35,6
D1	2	56,0000	623,2		
D1	3	56,0000	630,2		
E1	1	97,0000	1064,3	1000,3	59,1
E1	2	91,0000	988,7		

E1	3	86,0000	947,8		
A2	1	1,5	15,12	14	3
A2	2	1,6	16,20		
A2	3	1,1	11,06		
B2	1	0,99	10,16	9,3	0,8
B2	2	0,89	9,12		
B2	3	0,84	8,64		
C2	1	1,4	14,54	14,52	0,02
C2	2	1,4	14,53		
C2	3	1,4	14,50		
D2	1	1,9	19,67	22,0	3,3
D2	2	2	20,62		
D2	3	2,5	25,81		
E2	1	1,5	15,45	15,9	0,8
E2	2	1,5	15,47		
E2	3	1,6	16,79		

c) Fraction soluble, échangeable et complexée avec la MO (DTPA)

SOL	réplicat	Cu	Cu DTPA	moyenne	écart-type
		(mg/L)	(mg/kg sec)		
A1	1	190,0	1981,3	1941,7	115,2
A1	2	200,0	2031,9		
A1	3	190,0	1812,0		
B1	1	180,0	1760,7	1653,9	103,1
B1	2	160,0	1646,0		
B1	3	150,0	1554,9		
C1	1	310,0	3247,6	2960,7	252,4

C1	2	260,0	2773,2		
C1	3	270,0	2861,3		
D1	1	270,0	3072,8	2878,0	187,9
D1	2	250,0	2697,9		
D1	3	250,0	2863,4		
E1	1	320,0	3443,8	3055,4	353,7
E1	2	260,0	2751,8		
E1	3	280,0	2970,7		
A2	1	310	3133,34	2758	361
A2	2	240	2412,94		
A2	3	270	2729,22		
B2	1	350	3573,04	3585	14
B2	2	350	3580,87		
B2	3	350	3600,23		
C2	1	340	3528,21	3392	118
C2	2	320	3325,76		
C2	3	320	3321,99		
D2	1	310	3201,42	3278	66
D2	2	320	3313,95		
D2	3	320	3317,27		
E2	1	290	2986,76	2909	82
E2	2	280	2917,62		
E2	3	270	2823,78		

d) Contenu total en cuivre des sols contaminés (mgCu/kg sol sec)

sol	réplicats				moyenne	écart-type
	1	2	3	4		
A1	1794	2013	2647	2470	2231	395
B1	5228	5056	4887	4992	5041	143
C1	6217	6099	7299	7628	6811	767
D1	3986	4770	5501	6208	5116	955
E1	4691	5166	6173	6359	5597	800
A2	4613	5848	5942	5397	5489	586
B2	5665	6032	5725	5974	6076	633
C2	5774	6007	5504	6350	6429	632
D2	6066	6868	4413	4772	6435	1318
E2	4895	5277	10173	6041	6861	2040

IV.3 Toxicité initiale

SOL	RÉPLICAT	[CU] mg/kg	Inhibition croissance du feuillage Hordeum vulgare ²	Inhibition croissance des racines Hordeum vulgare ²	Mortalité Eisenia fetida ²
			%	%	%
A2	1	5231	87,1	78,6	100
A2	2	5231	74,5	69,7	50

² Les pourcentages d'inhibition ou de mortalité sont exprimées par rapport aux témoins correspondants, i.e. les mêmes sols non contaminés.

A2	3	5231	53,5	82,7	90
A2	4	5231	73,0	81,8	40
A2	5	5231	66,4	83,0	
B2	1	4386			40
B2	2	4386			50
B2	1	3275			30
B2	2	3275			10
B2	1	2456			40
B2	2	2456			10
B2	3	2456			10
B2	1	5848	85,3	94,7	70
B2	2	5848	76,2	93,8	40
B2	3	5848	66,1	85,4	
C2	1	5891	42,0	66,3	20
C2	2	5891	29,3	64,5	50
C2	3	5891	36,2	57,9	30
C2	4	5891	30,5	63,3	30
C2	5	5891	57,8	69,5	10
D2	1	4850	42,0	73,2	
D2	2	4850	40,8	57,9	
D2	3	4850	38,4	62,3	
D2	1	3622	44,6	65,9	
D2	2	3622	38,7	63,9	
D2	3	3622	29,4	65,7	
D2	1	2716	18,4	53,1	
D2	2	2716	14,5	48,7	
D2	3	2716	13,7	50,9	
D2	1	6467	55,7	78,4	10

D2	2	6467	52,9	79,5	10
D2	3	6467	51,3	76,8	
E2	1	5086	43,8	64,3	80
E2	2	5086	44,0	66,1	80
E2	3	5086	48,5	61,8	80
E2	4	5086	52,8	61,6	
E2	5	5086	32,4	61,8	
A1	1	238	99,0	76,1	0
A1	2	238	97,7	90,4	50
A1	3	238	100,0	85,3	
B1	1	5142			
B1	2	5142			
B1	3	5142			
C1	1	6158	51,0	98,3	70
C1	2	6158	69,4	97,5	80
C1	3	6158	60,9	98,8	80
C1	1	4618	43,8	95,0	60
C1	2	4618	45,3	94,6	40
C1	3	4618	38,8	91,6	10
C1	1	3079	30,0	86,0	
C1	2	3079	31,9	86,8	
C1	3	3079	29,8	83,2	
C1	1	1539	11,9	52,3	
C1	2	1539	6,9	56,1	
C1	3	1539	3,4	58,7	
C1	1	770		29,6	
C1	2	770		30,9	
C1	3	770		26,7	

D1	1	3283	58,6	93,2	60
D1	2	3283	61,9	92,6	80
D1	3	3283	59,9	90,5	70
D1	1	2189	45,1	84,2	50
D1	2	2189	49,6	85,6	10
D1	3	2189	51,1	83,9	
D1	1	1094	25,1	58,3	
D1	2	1094	32,1	62,0	
D1	3	1094	17,4	53,0	
D1	1	547	7,2	24,3	
D1	2	547	3,4	19,9	
D1	3	547	5,8	19,5	40
D1	1	4378	100,0	97,1	80
D1	2	4378	87,1	97,7	60
D1	3	4378	100,0	97,4	100
E1	1	4929	100,0		
E1	2	4929	95,9		
E1	3	4929	100,0		
E1	1	2464	88,2	92,6	80
E1	2	2464	88,8	90,8	80
E1	3	1232	86,3	91,3	
E1	1	1232	21,1	51,5	
E1	2	1232	12,3	53,7	
E1	3	1232	15,5	50,3	
E1	1	616	10,8	33,6	
E1	2	616	24,9	36,6	
E1	3	616	9,9	24,2	

IV.4 Suivi des caractéristiques des sols dans le temps

Le vieillissement a duré 16 semaines,

t0 : temps initial

t1 : 2 semaines

t2 : 4 semaines

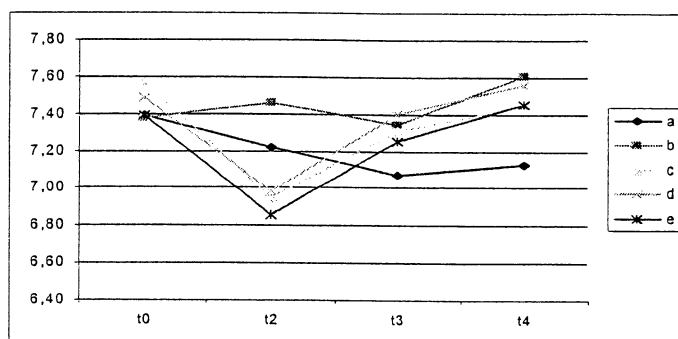
t3 : 8 semaines

t4 : 16 semaines (temps final)

a) pH

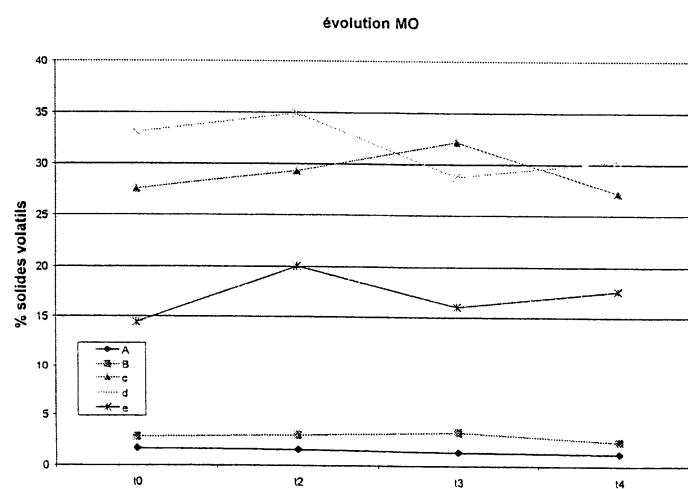
	t0	t2	t3	t4
	0	4	8	16
** A2	7,39 ± 0,073	7,22 ± 0,11	7,08	7,13 ± 0,01
** B2	7,38 ± 0,07	7,46	7,34	7,61 ± 0,04
C2	7,57 ± 0,13	6,95 ± 0,05	7,31	7,45 ± 0,02
D2	7,49 ± 0,11	6,98 ± 0,01	7,40	7,56 ± 0,01
E2	7,39 ± 0,03	6,86 ± 0,01	7,25	7,46 ± 0,02

³ Les valeurs qui sont suivies d'une incertitude sont basées sur des duplicats.



b) Solides volatils (%)

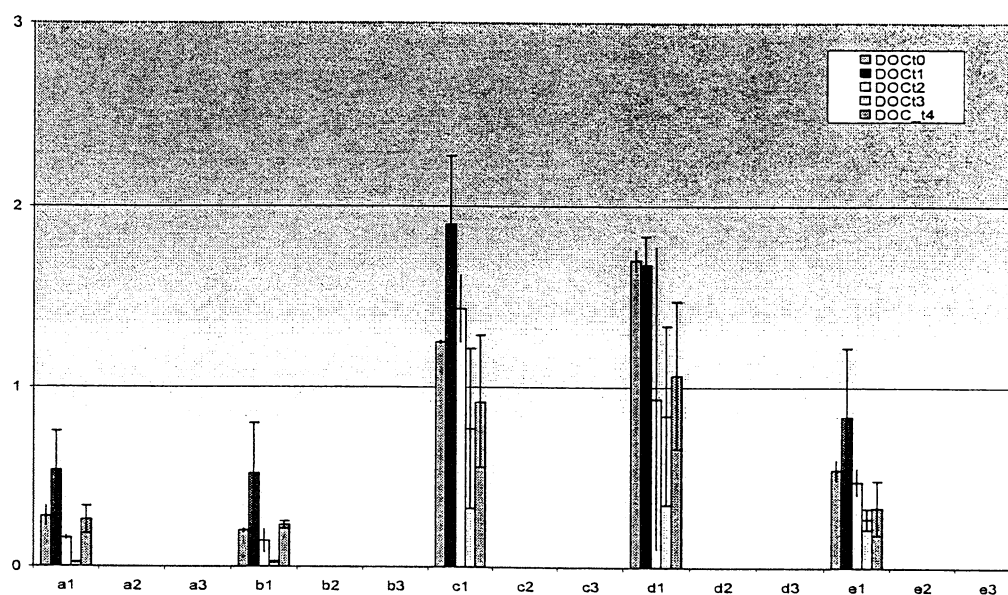
	t0	t2	t3	t4
A2	1,7 ± 0,34	1,6 ± 0,2	1,3	1,2
B2	2,8 ± 0,1	3,0	3,3	2,4
C2	27,6 ± 0,5	29 ± 2	32,2	27,2
D2	33,1 ± 2,9	35,0	28,8	30,3
E2	14,46 ± 0,06	20 ± 1	16,0	17,6



⁴ Les valeurs qui montrent une valeur d'incertitude sont issues de duplicats.

c) Carbone organique dissous - DOC (mg/g)

	réplicats	t0	t1	t2	t3	t4
A2	1	0,33	0,77	0,15	0,02	0,35
A2	2	0,22	0,48	0,17	0,02	0,21
A2	3	0,28	0,35	0,15	0,02	0,22
B2	1	0,21	0,30	0,22	0,03	0,26
B2	2	0,20	0,41	0,11	0,03	0,22
B2	3	0,20	0,84	0,10	0,02	0,22
C2	1	1,25	2,33	1,64	0,59	1,33
C2	2	1,26	1,76	1,33	0,45	0,80
C2	3	1,24	1,61	1,32	1,27	0,63
D2	1	1,67	1,81	0,00	0,66	1,36
D2	2	1,77	1,71	1,61	0,46	1,23
D2	3	1,66	1,50	1,20	1,40	0,60
E2	1	0,60	0,57	0,45	0,21	0,42
E2	2	0,54	1,11	0,56	0,29	0,42
E2	3	0,49		0,42	0,32	0,16



d) Hétérotrophes totaux (cell/g)

SOL	t0	t4
A2	415	3103
B2	3052	898645
C2	826474	1512056
D2	22679	558179
E2	24078	4075399

e) Capacité d'échange cationique – CEC (meq/100g)

	t0		t4	
A2	6,5 ±	0,1	15,6 ±	2,0
B2	15,8 ±	0,4	19,3 ±	4,0

C2	84,0 ± 2,8	97,4 ± 2,4
D2	85,1 ± 5,8	98,5 ± 5,2
E2	52,7 ± 0,8	49,4 ± 8,3

IV.5 Évolution du fractionnement dans le temps

a) FRACTION SOLUBLE (mg/g)

t (sem)	A2	B2	C2	D2	E2
0	4,4	1,1	3,2	5,5	3,0
0	5,1	2,6	2,4	5,5	2,6
0	4,1	1,8	2,6	5,9	3,6
2	9,0	1,0	3,8	3,9	2,2
2	5,2	1,5	3,9	4,0	1,6
2	5,6	1,4	4,1	3,6	1,7
4	8,7	3,3	5,1	4,7	1,6
4	3,9	1,5	6,0		1,4
4	3,5	2,1	5,3	2,7	1,5
8	1,0	1,0	1,5	1,5	2,6
8	3,0	0,9	1,5	1,5	1,3
8	1,9	1,0	1,4	1,6	1,4
16	2,3	5,6	7,6	5,8	3,5
16	3,7	2,3	3,0	5,0	6,9
16	5,3	1,5	3,2	5,5	3,3

b) FRACTION CaCl_2 (mg/g)

t (sem)	A	B	C	D	E
---------	---	---	---	---	---

0	15,12	10,16	14,54	19,67	15,45
0	16,20	9,12	14,53	20,61	15,47
0	11,06	8,64	14,50	25,81	16,79
2	24,62	11,28	13,66	6,43	15,19
2	24,18	37,23	20,36	7,00	860,49
2	31,22	7,79	13,04	6,87	26,21
4	16,04	12,23	31,11	21,47	84,73
4		11,61	178,17	7,00	61,58
4	17,00	23,35	62,26	13,18	59,76
8	405,76	24,58	11,73	11,35	29,70
8	396,80	60,55	10,10	10,64	25,88
8	412,21	21,57	10,26	10,14	22,68
16	86,50	22,53	7,50	12,62	15,65
16	14,62	11,38	9,94	11,23	15,69
16	14,59	5,64	10,14	11,29	16,85

c) FRACTION DTPA (mg/g)

t (sem)	A	B	C	D	E
0	3133	3573	3528	3201	2987
0	2413	3581	3326	3314	2918
0	2729	3600	3322	3317	2824
2	2788	2800	3264	2295	3538
2	3318	2970	3018	2786	3394
2	2848	2933	3341	2605	2673
4	2280	2872	3113	3426	2250
4	2584	3311	3098	3343	2892
4	2335	2959	3375	3718	2001

8	2266	2953	3421	3122	2424
8	2388	3291	3289	2601	2353
8	1906	3431	2828	2841	2405
16	2264	3496	3418	5052	2702
16	1483	2984	3547	4622	2807
16	1881	3005	3414	4597	2962

IV.6 Toxicité au temps final

a) MORTALITÉ VER 14 jours (%)

	A2		B2		C2		D2		E2	
Réplicat	t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf
1	100	100	70	60	20	20	10	10	80	60
2	50	90	40	90	50	10	10	20	80	30
3	90	100		90	30	40		10	80	
4	40			100	30	20		10		
5				80	10	20		30		
Moy.										
	70	97	55	85	33	23	10	13	80	45
ecartype										
	29	6	21	17	13	13	0	5	0	21

b) INHIBITION DE LA CROISSANCE DES RACINES (%)

A2		B2		C2		D2		E2	
t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	Tf
78,6	95,4	94,7	90,2	66,3	68,7	78,4	69,9	64,3	83,5
69,8	95,4	93,8	89,1	64,5	63,5	79,5	75,1	66,1	80,9
82,7	95,7	85,4	87,0	57,9	68,7	76,8	66,4	61,8	86,7
81,8	96,5		94,4	63,3	65,3		70,4	61,6	
83,0			96,5	69,5	67,4		78,9	61,8	
moyenne									
79	95,7	91	91	64	67	78	72	63	84
ecartype									
6	0,5	5	4	4	2	1	5	2	3

c) INHIBITION DE LA CROISSANCE DES RACINES (%)

A2		B2		C2		D2		E2	
t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf	t0	tf
87,1	80,8	85,3	100,0	42,0	34,3	55,7	17,6	43,8	22,9
74,6	74,7	76,2	78,2	29,3	23,7	52,9	35,8	44,0	39,7
53,5	100,0	66,1	100,0	36,2	12,8	51,3	19,3	48,5	36,9
73,0	59,7		98,6	30,5	36,5		37,7	52,8	
66,4			100,0	57,8	42,8		49,4	32,4	
moyenne:									
71	79	76	95	39	30	53	32	44	33
ecartype:									
13	17	10	10	12	12	2	13	8	9

ANNEXE V: Résultats supplémentaires

Ion libre

La mesure de l'ion libre a été réussie avec succès dans les sols à pH 5,5. Les résultats sont présentés ci-dessous accompagnés des valeurs de EC10 calculés pour ces mêmes sols, En effet, des courbes dose-réponse complètes ont été établies avec les sols A1, C1, D1 et E1.

Tableau V.I : Mesure de l'ion libre dans les sols acides

sol	[Cu ²⁺] mg/kg	moyenne	écart-type	%	%
				Cu ²⁺ /Cutot	Cu ²⁺ /Cusoluble
A1	1,81E+03	1750,4	76,0	80,9	113
A1	1,78E+03			79,9	111
A1	1,66E+03			74,6	104
B1	1,56E+02	146,9	8,5	3,1	71
B1	1,44E+02			2,9	65
B1	1,40E+02			2,8	63
C1	9,47E+00	11,6	1,8	0,1	12
C1	1,27E+01			0,2	16
C1	1,25E+01			0,2	16
D1	1,67E+01	16,2	0,6	0,3	15
D1	1,63E+01			0,3	14
D1	1,56E+01			0,3	14
E1	4,95E+01	54,5	8,8	0,9	28
E1	4,93E+01			0,9	28
E1	6,47E+01			1,2	36

Tableau V.II : Valeurs de EC50 calculées à partir de courbes dose-réponse

	EC50	EC50	LC50
sol	feuillage	racines	ver de terre
A1	120	141	287
A1	119	146	
A1	121	136	
B1	--	--	--
B1			
B1			
C1	5212	1378	4939
C1	5425	1325	4383
C1	4999	1431	5495
D1	2323	981	2719
D1	2169	943	2675
D1	2477	1019	2763
E1	1802	1173	1966
E1	1744	1091	
E1	1860	1255	

Étant donné l'influence significative de l'ion libre sur la toxicité, les résultats ont été repris afin d'évaluer des EC10 en fonction de la concentration en ions libres. Cette analyse est valide seulement si on pose que la spéciation exprimée en fraction (%) ne change pas en fonction de la concentration totale de cuivre.

V.II Données toxicologiques exprimées en mg Cu²⁺/kg

sol	EC50 feuillage	EC50 racines	LC50 ver de terre
A1	97	114	232
A1	95	117	
A1	90	101	
C1	7	2	7
C1	10	2	8
C1	9	3	10
D1	8	3	9
D1	7	3	9
D1	8	3	8
E1	16	10	17
E1	15	10	
E1	21	15	