

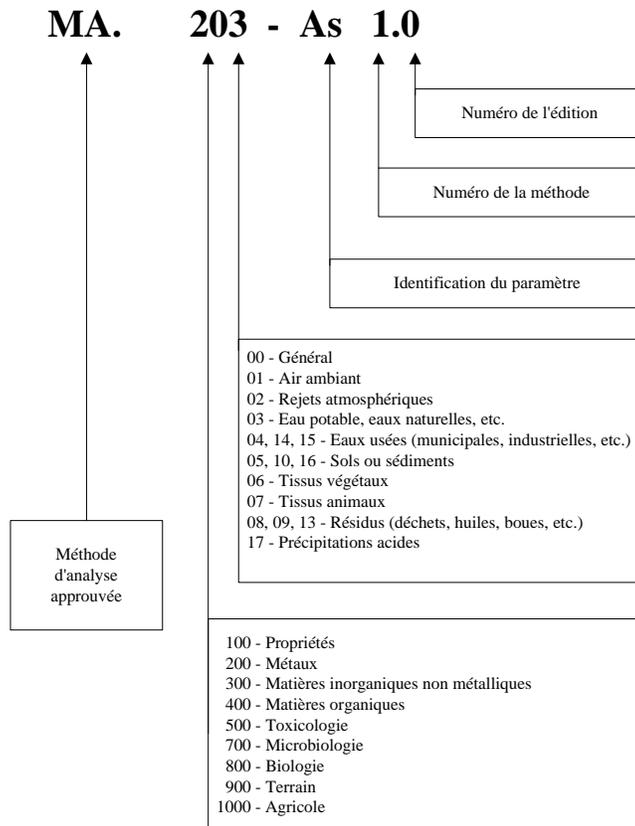
Méthode d'analyse



MA. 500 – Lix. 1.0

Protocole de lixiviation applicable aux tests biologiques

Exemple de numérotation :



La première édition d'une méthode est marquée de l'indice « 0 ». De façon usuelle, après quatre révisions successives, l'indice est augmenté de 1. Il peut également être élevé si une révision entraîne des modifications en profondeur de la méthode. La date de révision est suivie d'un chiffre qui indique le numéro de la révision en cours.

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.
Protocole de lixiviation applicable aux tests biologiques. MA. 500 – Lix. 1.0, Rév. 1,
Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 2012, 22 p.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
2700, rue Einstein, bureau E.2.220
Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301
Télécopieur : 418 528-1091
Courriel : ceaeq@mddep.gouv.qc.ca

© Gouvernement du Québec, 2012

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	6
2. PRINCIPE ET THÉORIE	6
3. FIABILITÉ	8
3.1. Interférence	8
4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION	8
4.1. Prélèvement	8
4.2. Conservation	9
4.3. Préparation	9
5. INSTRUMENTS, MATÉRIELS ET RÉACTIFS	11
6. PROTOCOLE ANALYTIQUE	12
6.1. Préparation du mélange de lixiviation	12
6.2. Optimisation des conditions de lixiviation pour l'application aux essais de toxicité	12
6.3. Lixiviation à l'eau	12
6.4. Lixiviations successives	13
6.5. Lixiviation en milieu acide	13
6.6. Extraction au Méthanol	14
6.7. Caractérisation toxicologique	15
7. BIBLIOGRAPHIE	17
ANNEXE 1 - Toxicité de différents solvants miscibles dans l'eau	19
ANNEXE 2 - Feuille de travail : lixiviation simple à l'eau ou au méthanol	20
ANNEXE 3 - Feuille de travail : lixiviations successives	21
ANNEXE 4 - Feuille de travail : lixiviation en milieu acide (pH 5,5)	22

INTRODUCTION

Les protocoles standardisés pour la préparation d'échantillons solides sont pour la plupart liés à la préparation d'extraits (lixiviats, extraits organiques) destinés à la caractérisation chimique des déchets solides (CEAEQ, 2010; EA NEN, 2004; USEPA, 1992). Peu de méthodologies ont été adaptées spécifiquement pour les besoins de la caractérisation toxicologique. De façon générale, une lixiviation simple à l'eau est utilisée. Bien que cette fraction rende compte de la toxicité directe et du danger immédiat pour les cibles biologiques, elle apporte peu d'information sur la dynamique de relargage à long terme et le potentiel de contamination totale. Certaines méthodes de percolation (ISO, 2007) sont toutefois mieux adaptées aux essais de toxicité mais relativement complexe.

Certaines contraintes sont inhérentes à une application biologique dans un contexte d'évaluation écotoxicologique. Les extraits liquides doivent être compatibles avec les essais de toxicité (i.e. permettre la réalisation du test), ils doivent fournir des renseignements sur la dynamique temporelle et l'information générée doit être interprétable et prédictive.

Les principaux éléments caractérisant les méthodes de lixiviation sont les suivants :

- l'échantillon doit être homogénéisé et tamisé à $\leq 9-10$ mm ou ≤ 4 mm;
- les solvants de lixiviation utilisés : l'eau déminéralisée, le tampon acétate, l'eau déminéralisée saturée en CO₂ et l'eau déminéralisée acidifiée à l'acide acétique, nitrique ou sulfurique;
- les pH utilisés : 7,0; 2,9; 4,5 ou 4,9 pour le tampon acétate, 4,0-4,5 pour l'eau déminéralisée saturée en CO₂ et 4,0 pour l'acide nitrique et sulfurique;
- les ratios solide:liquide : 1:2, 1:4, 1:8, 1:10, 1:16, 1:20, 1:50;
- la répétition des lixiviations : lixiviations successives avec cumul des ratios; le ratio cumulatif peut atteindre 1:100;
- la durée de la lixiviation : 6, 16, 18, 24 et 48 heures;
- la température de lixiviation : généralement la température ambiante
- le type d'agitation : agitation rotative ou linéaire
- la filtration du lixiviat : généralement sur 0,45 µm.

Des méthodes d'extraction avec solvants organiques sont également envisagées pour mettre en évidence la mobilité et la toxicité associée aux fractions liées plus fortement à la matrice ou aux fractions hydrophobes. Cependant, la toxicité inhérente au solvant utilisé entraîne une interférence de mesure, qui peut représenter un handicap. Une attention particulière doit être portée au type de solvant utilisé ainsi qu'à sa concentration. Les solvants les moins toxiques aux concentrations d'essais et qui semblent être les plus intéressants sont des solvants polaires (méthanol, DMSO, éthanol, etc.) et miscibles dans l'eau.

La présente approche utilise des variantes méthodologiques adaptées aux essais biologiques pour la lixiviation simple à l'eau, la lixiviation successive, la lixiviation en milieu acide et l'extraction au méthanol. La démarche proposée peut être appliquée en totalité ou partiellement selon les besoins spécifiques de l'étude.

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode s'applique à la préparation d'extraits liquides de sols ou de déchets solides contaminés par des substances solubles ou faiblement solubles dans l'eau.

L'intégration des résultats issus des différentes variantes méthodologiques peut être interprétée en regard de l'estimation du danger et du risque écotoxicologique dans un contexte de contamination par des substances dont la solubilité et la biodisponibilité sont variables.

L'approche méthodologique a été développée pour les besoins des évaluations du risque écotoxicologique prévues à la Politique de protection des sols et de réhabilitation des sites contaminés.

2. PRINCIPE ET THÉORIE

L'usage de la toxicité comme paramètre de suivi de la contamination permet une mesure globale qui rend compte de la complexité du mélange de contaminants et des multiples interactions qui conditionnent la biodisponibilité et le niveau d'exposition des espèces vivantes. La réalisation d'essai de toxicité sur différentes fractions du sol contaminé permet de mieux cerner l'état des substances qui sont à l'origine de la toxicité. La persistance d'une activité biologique et la lixivabilité (mobilité) vers la nappe phréatique et les cours d'eau sont des préoccupations majeures par rapport aux concentrations résiduelles de contaminants dans les sols.

La toxicité lixiviable réfère aux effets causés par la fraction aqueuse du sol qui présente un potentiel élevé de déplacement. Cette toxicité peut s'exprimer par différents phénomènes naturels tels la percolation, la diffusion et le lessivage, qui sont souvent désignés par le terme lixiviation. Un essai unique de lixiviation en laboratoire n'est pas représentatif de l'ensemble des phénomènes conditionnant la mobilité en milieu naturel. En d'autres termes, une lixiviation unique à l'eau est insuffisante pour constituer une preuve que la mobilité est nulle sur le terrain.

Les contaminants peuvent se présenter sous forme dissoute, adsorbés aux particules de sol ou complexés plus ou moins fortement avec la matière organique ou encore sous forme d'une fraction hydrophobe enrobant les particules de sol. La mobilité des produits inorganiques est particulièrement influencée par la forme de spéciation, le pH ainsi que par le contenu en argile et en matière organique du sol. Le comportement des substances organiques est surtout influencé par la nature et la quantité de la matière organique ainsi que par certaines propriétés des composés eux-mêmes (solubilité, volatilité, etc.).

L'état physique du sol (granulométrie, hétérogénéité, compaction, etc.) joue un rôle déterminant sur le temps requis pour relarguer une quantité donnée de contaminants et atteindre un état d'équilibre entre la phase solide et liquide. Le tamisage du sol à 4 mm ou 10 mm augmente le

ratio surface:volume et amplifie le contact entre le solvant extractant et les particules de sol de façon à simuler une situation où le relargage est maximisé.

Également, le ratio solide:liquide lors de la lixiviation permet une interprétation de l'aspect temporel du relargage. Les ratios élevés (≥ 10), souvent utilisés, manquent de réalisme quant au potentiel de libération à court terme dans des conditions climatiques naturelles. Par contre, les faibles ratios ($\approx 0,1$), d'un niveau de réalisme plus élevé, sont bien simulés par les essais de percolation.

Les différents types de systèmes de mise en contact sont liés au ratio solide:liquide utilisé. Les systèmes fermés (lixiviation unique) sont couramment utilisés et plusieurs protocoles ont été standardisés dans un contexte réglementaire pour la caractérisation des déchets solides. Après une durée de contact déterminée, un état d'équilibre est atteint et les substances ne migrent plus de la phase solide vers la phase liquide. Cette méthode est simple d'application mais elle manque de réalisme temporel et ne permet pas de déterminer le potentiel total de relargage.

Des systèmes de type semi-ouvert (lixiviations successives) où des états d'équilibre successifs sont atteints jusqu'à l'épuisement éventuel du contenu mobilisable sont également utilisés conjointement aux lixiviations uniques. Cette approche permet de déterminer le potentiel de relargage à long terme tout en étant simple d'application.

Les systèmes ouverts tels les essais de percolation ou de lessivage permettent d'estimer le relargage en fonction du temps et présentent un niveau de réalisme à court terme beaucoup plus élevé pour l'estimation de la mobilité. Par contre, ils nécessitent des montages plus complexes à effectuer et difficiles à soustraire aux biais techniques tels la formation de chemins préférentiels ou une compaction s'éloignant de la réalité.

Le solvant généralement utilisé dans les essais de lixiviation destinés à la caractérisation toxicologique est l'eau déminéralisée. Dans la plupart des cas, la fraction liquide qui est générée présente un pH qui est dicté par l'échantillon. L'ajustement du pH à une valeur de 4,5-5,5 (sans tampon) mène généralement à une situation similaire. Dans ces conditions, il n'est pas évident qu'une lixiviation « acide » sans réajustement continu du pH apporte une information additionnelle.

Les solutions acides avec tampon acétate telles qu'utilisées pour la caractérisation chimique des déchets solides permettent de conserver un pH stable mais présentent une toxicité interférente très élevée qui en font des solutions inadéquates pour les essais biologiques. L'usage d'une solution acide (acide acétique, nitrique, chlorhydrique et sulfurique ou sursaturation en CO_2) combiné au réajustement du pH à la valeur désirée en cours de lixiviation est une meilleure solution et permet de générer une fraction où les contaminants solubilisables en milieu acide seront relargués. Il est généralement nécessaire de réajuster le pH à une valeur compatible avec les essais biologiques à la fin de la procédure. Cette dernière façon de faire se rapproche des méthodologies TIE (Toxicity Identification Evaluation) préconisées par l'USEPA (1991).

La lixiviation ou l'extraction à l'aide d'un solvant organique permet de produire une fraction représentative du contenu en contaminants organiques peu solubilisables à l'eau. Le méthanol, qui est miscible dans l'eau et moins toxique que la plupart des solvants généralement utilisés, est

très approprié à cet égard. Des essais réalisés dans nos laboratoires ont démontré une récupération de toxicité de 100 à 500 fois supérieure avec le méthanol par rapport à l'eau pour des sols contaminés aux hydrocarbures.

3. FIABILITÉ

3.1. INTERFÉRENCE

Le lixiviat d'un sol de référence (sol identique à la matrice à l'étude mais sans contamination) peut dans certains cas entraîner un niveau de toxicité détectable. Cette toxicité peut être liée simplement à certaines caractéristiques physico-chimiques peu propices à la croissance et la survie des organismes tests. Un « blanc » de lixiviation avec un sol de référence doit idéalement être réalisé (lorsque disponible) parallèlement à la caractérisation du sol à l'étude.

L'usage de solutions acides pour la lixiviation peut entraîner une toxicité interférente liée à des quantités trop élevées d'électrolytes lors des étapes d'acidification à pH 5,5 et de neutralisation à 6,0 avant le début de l'essai de toxicité. Un blanc de la solution acide neutralisée à pH 6,0 permet de déterminer cette interférence.

L'usage de solvants organiques entraîne une interférence de toxicité non négligeable de telle sorte que leur emploi se limite en pratique aux sols ou aux déchets ayant des niveaux de toxicité relativement élevés. Dans les cas moins sévères, la toxicité du solvant cause un effet de masquage qui rend inappropriée cette option.

La toxicité interférente de différents solvants a été déterminée à l'aide des **essais de bioluminescence (Microtox), de létalité avec la daphnie et d'inhibition de la croissance avec l'algue verte *Pseudokirchneriella***. La combinaison Méthanol/Microtox semble optimale pour le suivi de la toxicité par des contaminations organiques extractibles à l'aide de solvants. L'annexe 1 présente la toxicité de différents solvants miscibles dans l'eau et avec les essais Microtox, daphnie et algue.

4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION

4.1. PRÉLÈVEMENT

Le prélèvement et la préparation des échantillons de sol posent des exigences particulières. L'échantillon doit d'abord être représentatif du site échantillonné. L'hétérogénéité de la matrice en termes de granulométrie et de structure verticale ainsi que les proportions variables des principaux constituants minéraux et organiques font en sorte que le niveau de représentativité est plus difficile à concevoir que pour la plupart des matrices liquides. À cet égard, les guides présentant les techniques d'échantillonnage appropriées doivent être suivis.

L'échantillon doit être prélevé dans un contenant non toxique (polypropylène ou autres), neuf ou ayant subi un lavage approprié. La quantité d'échantillon requise dépend des options

méthodologiques retenues. Pour effectuer l'ensemble des opérations, deux kilogrammes (sec et < 10 mm) sont requis.

Si le sol ou le déchet à échantillonner est très hétérogène, il peut être préférable de prélever une plus grande quantité (3-5 kg) de façon à pouvoir constituer un sous-échantillon représentatif.

4.2. CONSERVATION

Les échantillons doivent être entreposés à l'obscurité à 4 °C. Aucun agent de préservation ne doit être ajouté et les échantillons ne doivent pas être congelés.

Il est recommandé de procéder aux essais de toxicité le plus rapidement possible après l'échantillonnage. La durée de conservation maximale pour les sols est de 45 jours. Pour les échantillons liquides, tels les lixiviats de sites contaminés ou les eaux usées en général, le délai maximal de conservation est de 5 jours. Pour les lixiviats préparés au laboratoire, le délai maximal est de 5 jours après la lixiviation. Dans le cas des échantillons solides, la durée de conservation peut toutefois être variable selon la nature et l'âge de la contamination. Les sols présentant des contaminations récentes susceptibles de contenir des substances dégradables ou volatiles devraient être traités rapidement. Également, les sols ou déchets faisant l'objet de contamination ancienne susceptible d'être relativement stable peuvent tolérer une durée de conservation plus longue à 4 °C.

4.3. PRÉPARATION

4.3.1. Homogénéisation

L'échantillon doit être homogénéisé par brassage manuel de façon à obtenir un mélange qui soit le plus parfait possible. S'il y a des agrégats de forte taille, il faut, dans la mesure du possible, les briser et les intégrer à l'ensemble du mélange. Les fractions trop dures et impossibles à briser doivent être mises à l'écart. Les blocs de type monolithique pourront le cas échéant subir l'essai de lixiviation sous cette forme alors que la fraction homogénéisée sera traitée indépendamment.

4.3.2. Prélèvement de sous-échantillons

Prélever des fractions d'échantillons homogénéisés en délimitant des portions à l'aide de deux règles. Prélever les fractions entières sur toute leur épaisseur, car il peut s'établir un gradient granulométrique vertical lors du brassage.

4.3.3. Broyage et tamisage

Si nécessaire, l'échantillon est broyé à l'aide d'un mortier et pilon de façon à ce que les plus gros agrégats passent à travers un tamis de 9,5 mm. Par la suite, l'échantillon est passé sur un tamis de 4 mm. Si l'échantillon contient en totalité des morceaux plus grands que 9,5 mm qui ne peuvent pas être fragmentés, procéder à la lixiviation directement sur cette fraction. Toutefois, les conditions d'application de l'essai devront être rapportées clairement. De même, si les fractions

sont trop dures pour passer à travers du tamis de 4 mm, effectuer la lixiviation sur la fraction 4 – 9,5 mm.

4.3.4. Détermination du pourcentage d'eau extractible dans les échantillons solides

Si l'échantillon est détrempe et qu'il a pu contenir de l'eau extractible, il faut procéder à cette détermination de façon à ajuster le poids d'échantillon utilisé pour la lixiviation ainsi que la quantité d'eau ou de solvant de lixiviation.

- Peser une membrane en fibre de verre Whatman n° 934 AH ou l'équivalent et noter le poids (poids A).
- Peser le contenant qui doit recevoir le filtrat et noter ce poids (poids B).
- Déposer le filtre sur le support du système de filtration.
- Peser une portion d'au moins 100 g d'échantillon homogénéisé dans un contenant et noter le poids. Ce poids représente le poids du contenant et de l'échantillon (poids C).
- Transférer l'échantillon dans l'entonnoir à filtration; la filtration doit être effectuée à la température ambiante.
- Le contenant ne pouvant être rincé, peser de nouveau le contenant et la portion résiduelle de l'échantillon ayant adhéré aux parois (poids D).
- Débuter la filtration en augmentant la pression progressivement jusqu'à 10 lb/po². S'il n'y a aucun écoulement, maintenir tout de même la filtration pendant 2 minutes et poursuivre la filtration.
- Augmenter la pression par tranche de 10 lb/po² jusqu'à un maximum de 50 lb/po². Pour chaque étape de 10 lb/po² où il n'y a aucun écoulement de liquide, maintenir la pression pendant 2 minutes et augmenter la pression jusqu'à la prochaine tranche.
- À la dernière tranche (50 lb/po²), maintenir encore la pression pendant 2 minutes s'il n'y a aucun écoulement.
- Peser le contenant avec le liquide (poids F).
- Effectuer le calcul suivant pour obtenir le % de liquide extractible :

$$\% L = \frac{F - B}{C - D} \times 100$$

où

- % L : pourcentage de liquide extractible;
- B : poids du contenant en grammes;
- C : poids du contenant et de l'échantillon en grammes;

- D : poids du contenant et de l'échantillon résiduel en grammes;
F : poids du contenant et du filtrat en grammes.

Le pourcentage de solide sans eau extractible est égal à :

$$\% S = 100 - \% L$$

où

- % S : pourcentage de solide sans eau extractible;
% L : pourcentage de liquide extractible.

4.3.5. Préparation des échantillons semi-liquides (boue fluide)

- Les échantillons boueux fluides sont centrifugés à 2 000 g pendant 15 minutes ou décantés pendant une période de 24 heures.
- Le surnageant est séparé de la fraction solide et il est conservé pour une analyse éventuelle.
- La fraction solide est homogénéisée et traitée comme décrit précédemment.

5. INSTRUMENTS, MATÉRIELS ET RÉACTIFS

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité A.C.S., à moins d'indication contraire.

- 5.1. Tamis de grosseur de maille de 9,5 mm
- 5.2. Plateau d'acier inoxydable, de verre ou de polypropylène pour l'homogénéisation de l'échantillon
- 5.3. Mortier et pilon (si nécessaire)
- 5.4. Système de filtration avec pompe à vide
- 5.5. Filtre Whatman n° 934 AH
- 5.6. Balance
- 5.7. pH-mètre
- 5.8. Roue à lixiviation ou tout autre système adéquat
- 5.9. Acide acétique glacial
- 5.10. Hydroxyde de sodium

6. PROTOCOLE ANALYTIQUE

6.1. PRÉPARATION DU MÉLANGE DE LIXIVIATION

- Peser 100 g d'échantillon homogénéisé auquel sera ajouté, s'il y a lieu, le pourcentage d'eau extractible tel que déterminé au point 4.3.4. Par exemple, si l'échantillon contient 20 % de liquide extractible, un poids d'échantillon de 120 g doit être pesé.

Exemple : $1\ 000\text{ g d'eau} - (0,20 \times 100\text{ g}) = 980\text{ g}$ ou 980 ml d'eau à ajouter

- Placer l'échantillon dans un contenant de 2 litres en polypropylène ou en verre selon le cas, de façon à éviter l'adsorption de contaminant sur les parois.
- S'il n'y a pas d'eau extractible dans l'échantillon, 1 000 ml d'eau sont ajoutés au 100 g d'échantillon.
- Si l'échantillon contient de l'eau extractible, ajouter une quantité d'eau ultrapure égale à dix fois le poids d'échantillon sans eau (100 g), soit 1 000 g moins le pourcentage de liquide extractible de l'échantillon s'il y a lieu.

6.2. OPTIMISATION DES CONDITIONS DE LIXIVIATION POUR L'APPLICATION AUX ESSAIS DE TOXICITÉ

Lors d'une étude réalisée dans notre laboratoire visant à optimiser les conditions de lixiviation, nous avons réalisé des essais avec des ratios solide:liquide de 1:1, 1:5 et 1:10 et des durées de lixiviation de 2 min, 30 min, 2 h et 24 h.

Cette étude a démontré que la durée de lixiviation n'est pas un facteur déterminant pour la mesure de la toxicité. À la lumière des résultats obtenus, le ratio 1:10 a été conservé de façon à obtenir un volume d'extrait suffisant pour toutes les caractérisations désirées et une durée de lixiviation de 2 heures a été retenue.

6.3. LIXIVIATION À L'EAU

Les conditions de lixiviation sont les suivantes :

Agitation continue à raison de 20 tours/minutes

Durée de contact de 2 heures

Ratio solide:liquide de 1:10

Le solvant de lixiviation est l'eau ultrapure

La température est de $20\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$

- Fermer les bouteilles hermétiquement et les disposer sur l'agitateur rotatif. Le dispositif utilisé permet de lixivier 8 bouteilles de 2 litres.

- D'autres dispositifs peuvent être adéquats, tel un agitateur à rouleaux permettant une agitation d'au moins 20 tours/minute.
- Après la période de lixiviation de 2 heures, laisser décanter l'échantillon pendant environ 5 minutes, puis retirer le surnageant et centrifuger à 2 500 g pour une durée de 20 minutes.
- Noter l'ensemble des données sur la feuille de travail prévue à cet effet. Un exemple de feuille de travail est présenté à l'annexe 2.

6.4. LIXIVIATIONS SUCCESSIVES

La lixiviation successive consiste à procéder à quatre lixiviations consécutives sur le même échantillon de façon à produire quatre extraits différents et obtenir un ratio solide:liquide cumulé de 1:40.

On devrait respecter la séquence de temps entre les lixiviations (ne pas conserver la fraction solide pour une réutilisation ultérieure) de façon à éviter de modifier les équilibres chimiques entre les étapes.

Les conditions d'application de la première lixiviation sont les mêmes que pour la lixiviation à l'eau (cf. 6.3) sauf qu'après l'étape de séparation, la fraction solide doit être récupérée pour être remise en contact avec du solvant de lixiviation frais. Les lixiviations subséquentes sont effectuées à intervalles de deux heures et les lixiviats sont centrifugés pendant 20 minutes à 2 500 g à chacune des étapes. Après chaque centrifugation du lixiviat, il faut récupérer le culot et le réintégrer dans le contenant de lixiviation avec son échantillon de façon à minimiser les pertes de solide et plus particulièrement la fraction des particules fines.

Au cours de la procédure, toutes les données pertinentes doivent être notées sur une feuille de travail, dont un exemple est donné à l'annexe 3.

6.5. LIXIVIATION EN MILIEU ACIDE

La lixiviation en milieu acide (pH de 5,5) permet de mettre en évidence des contaminations plus résistantes à la solubilisation à des pH neutres ou légèrement alcalins, lesquels sont généralement produits par l'échantillon lui-même lors de la lixiviation unique. Un pH de 5,5 a été retenu, car la biodisponibilité est maximisée à un pH qui est près de cette valeur.

La méthode décrite ici est inspirée du protocole 1310B USEPA (2004) auquel certains changements ont été apportés afin de pouvoir l'appliquer aux besoins des tests biologiques. Malgré sa complexité plus grande que celle des autres lixiviations, cette méthode offre un degré de faisabilité acceptable. Elle convient aux sols ayant des pH qui ne sont pas fortement tamponnés.

Des essais d'optimisation ont permis d'établir que l'acide chlorhydrique cause moins de toxicité interférente comme agent acidifiant que l'acide acétique. Une concentration de 0,5 N a été retenue et un volume maximum de 200 ml est ajouté à l'échantillon. L'acide nitrique n'a pas été

considéré étant donné que la formation de nitrate en solution constitue une interférence (stimulation de la croissance) lors de l'usage de test algal. L'acide sulfurique aurait pu également être un choix adéquat.

Les conditions générales (température, agitation, ratio solide:liquide) sont les mêmes que pour la lixiviation à l'eau.

Un échantillon tamisé de 100 g (équivalent sec) est placé dans un contenant de plastique de 2 litres, auquel on ajoute 8 fois le volume en eau millipore (800 ml). Après une agitation d'une durée d'une heure, le pH de la solution est mesuré. S'il est supérieur à 5,5, il doit être réajusté à $5,3 \pm 0,2$ avec l'acide chlorhydrique 0,5 N. Si le pH est $\leq 5,5$ aucun ajout d'acide n'est requis et la procédure normale de lixiviation à l'eau s'applique.

Par la suite, l'évolution du pH de la solution doit être suivie au cours de la lixiviation et cette étape s'effectue de la façon suivante : le pH est d'abord mesuré et ajusté à des intervalles de 15 minutes. Lorsque les réajustements sont égaux ou inférieurs à 0,5 unités de pH, les mesures sont décalées aux 30 minutes, puis aux 60 minutes. La période de suivi et d'ajustement du pH est d'une durée totale de 6 h. Par la suite, la lixiviation est poursuivie sans autre intervention pour une période de 18 h (total de 24 h).

Après la lixiviation de 24 heures, le pH est de nouveau mesuré. S'il est supérieur à 5,5, il doit être réajusté à $5,3 \pm 0,2$ et la lixiviation se poursuit pour une période additionnelle de 4 h pendant laquelle il doit être ajusté, si nécessaire, à toutes les heures. Si le pH est égal ou inférieur à 5,5 la lixiviation est terminée.

Il ne faut pas ajouter au lixiviat, au total, plus de 2,0 ml d'acide par gramme de solide (200 ml pour 100 g). Si cette quantité est atteinte, la lixiviation est simplement poursuivie jusqu'à 24 h, sans réajustement supplémentaire, et ce, même si le pH est supérieur à 5,5.

Lorsque la lixiviation est terminée, jauger à un litre de façon à atteindre un ratio solide:liquide de 1:10. Le lixiviat est ensuite décanté, puis centrifugé à 2 500 tr/min pendant 20 minutes. Le surnageant est alors récupéré et son pH est réajusté à une valeur de 6,0 avec du NaOH.

L'ensemble des données est noté sur la feuille de travail, telle que présentée à l'annexe 4.

Un blanc constitué d'un sol référence lixivié et acidifié avec le même volume d'acide et neutralisé au NaOH doit être effectué parallèlement, si un sol référence est disponible. Le résultat de toxicité peut alors être exprimé en soustrayant la valeur du blanc de celle de l'échantillon. Ces données doivent être clairement indiquées sur le certificat d'analyse.

6.6. EXTRACTION AU MÉTHANOL

La détermination de la toxicité sur un extrait obtenu avec le méthanol permet d'obtenir une information utile sur le potentiel d'un relargage continu à long terme par des substances peu solubles dans l'eau.

L'extraction au méthanol est effectuée selon les mêmes conditions que la lixiviation simple à l'eau (section 6.3). Le méthanol 100 % est utilisé.

Comme il a été mentionné plus haut, le méthanol exerce une interférence de toxicité qui se doit d'être quantifiée à l'aide d'un blanc effectué avec un sol de référence. La toxicité de l'extrait d'échantillon doit être supérieure d'au moins 30 % à celle du sol de référence pour être considérée comme significative.

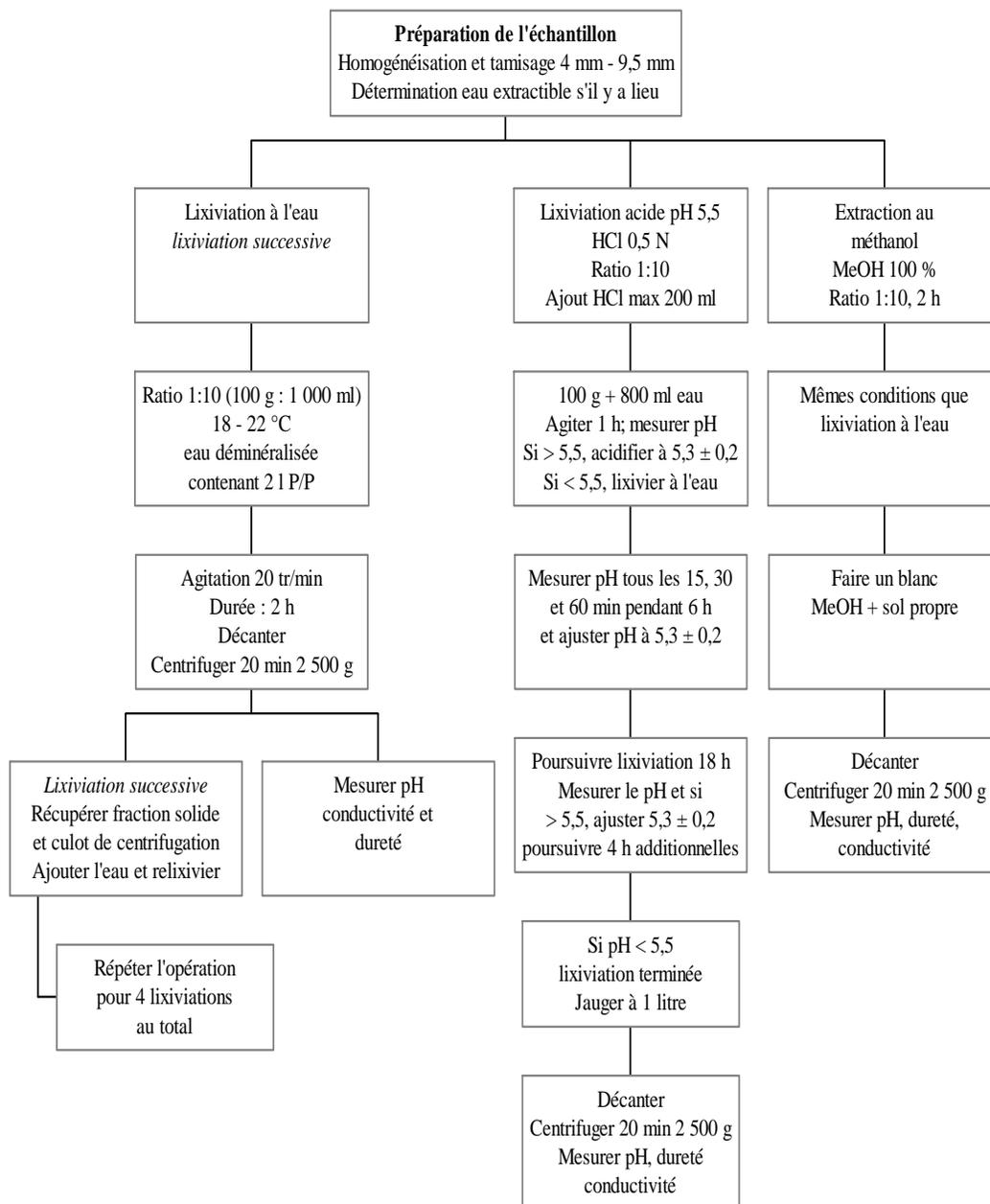
Le résultat de toxicité doit alors être exprimé en soustrayant la valeur du groupe de référence de celle de l'échantillon. Un exemple de feuille de travail pour l'enregistrement de l'information est présentée à l'annexe 2.

6.7. CARACTÉRISATION TOXICOLOGIQUE

Les essais de toxicité utilisés en écotoxicologie sont nombreux et la sélection doit prendre en considération certains critères tels la sensibilité, la représentativité, la fiabilité, le coût et les contraintes inhérentes aux essais. Dans cette approche méthodologique, les critères de facilité d'utilisation, de coût, de sensibilité et de fiabilité apparaissent prépondérants. Le volume d'extrait requis pour la réalisation d'un test est également un critère important de sélection.

Les essais d'inhibition de la bioluminescence à l'aide la bactérie *Vibrio fischeri* (ISO, 2007; Env. Can., 1992), d'inhibition de la mobilité avec la daphnie (ISO, 1996), de létalité avec la daphnie (CEAEQ, 2011) et d'inhibition de la croissance avec l'algue *Pseudokirchneriella* (CEAEQ, 2011) sont appropriés pour le suivi de la toxicité dans le contexte actuel. Pour les lixiviations successives, l'essai de bioluminescence est particulièrement adéquat. L'essai avec l'algue *Pseudokirchneriella* présente une excellente sensibilité, particulièrement aux métaux traces. Par contre, il est sensible au pH inférieur à 6,0 ainsi qu'aux interférences causées par l'azote et le phosphore. Ces derniers éléments doivent être pris en compte en fonction de la nature des échantillons à étudier.

Protocole de lixiviation



7. BIBLIOGRAPHIE

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Détermination de la toxicité létale CL₅₀ 48h Daphnia magna, MA. 500 - D. mag. 1.1*, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 2011, 18 p.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Détermination de la toxicité : inhibition de la croissance chez l'algue Pseudokirchneriella subcapitata, MA. 500 – P.sub. 1.0, Rév. 2*, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 2011, 21 p.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Protocole de lixiviation pour les espèces inorganiques*, MA. 100 – Lix.com.1.1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2010, 17 p.

ENVIRONMENTAL AGENCY NETHERLAND. *Leaching characteristics of granular building and waste materials; The determination of the availability of inorganic components for leaching; The maximum availability leaching test*. EA NEN 7371, 2004.

ENVIRONNEMENT CANADA. *Méthode d'essai biologique : essai de toxicité sur la bactérie luminescente*. Unité de l'élaboration et de l'application des méthodes, Ottawa, Publication SPE 1/RM/24, novembre 1992.

ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *Qualité de l'eau – Détermination de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – Essai de toxicité aiguë*, Norme internationale, ISO 6341, 1996.

ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *Qualité de l'eau – Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de Vibrio fischeri (Essai de bactéries luminescentes) – Partie 2 : Méthode utilisant des bactéries déshydratées*, Norme internationale, ISO 11348-2, 2007.

ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. *Qualité du sol – Modes opératoires de lixiviation en vue d'essais chimiques et écotoxicologiques ultérieurs des sols et matériaux du sol. – Partie 3 : Essai de percolation à écoulement ascendant*, Norme internationale, ISO 21268-3, 2007.

USEPA. *Methods for Aquatic Toxicity Identification Evaluations. Phase 1 Toxicity Characterization Procedures*, Environmental Protection Agency, EPA-600/6-91/003, 1991.

USEPA. *Evaluation of Terrestrial Indicators for Use in Ecological Assessments of Hazardous Waste Sites*, Office of research and Development, Environmental Protection Agency, Washington, EPA/600/R-92/183, 1992.

USEPA. *Extraction procedure (EP) toxicity test method and structural integrity test*, Environmental Protection Agency, Method 1310B, 2004.

USEPA. *Toxicity Characteristic Leaching Procedure*, Environmental Protection Agency, Method 1311, 1992.

ANNEXE 1

Toxicité de différents solvants miscibles dans l'eau

	Bioluminescence CI ₅₀ 5 min (% V/V)	Daphnie CL ₅₀ 48 h (% V/V)	Algues CI ₅₀ 96 h (% V/V)
Méthanol	7,0	3,8	1,8
Éthanol anhydre	3,9	2,5	0,08
Acétone	2,1	2,3	0,69
Diméthyl formamide	1,2	2,7	0,8
Triéthylène glycol	4,6	3,8	1,8
Tween 20	0,04	0,06	0,001

ANNEXE 2

Feuille de travail : lixiviation simple à l'eau ou au méthanol

Client : _____ Échantillon : _____
Projet : _____ Identification : _____
Mode de conservation : _____
Date d'analyse : _____ Tamisage : 4 mm 9,5 mm
Heure (début) : _____ % eau extractible : _____
Quantité utilisée (g) : _____

Solvant utilisé : _____
Volume de solvant utilisé (ml) : _____
Durée de lixiviation : _____
Agitation : 20 tours/minutes
Décantation : 15 minutes
Centrifugation : 20 minutes à 2 500 g

Caractéristiques de l'extrait recueilli

pH : _____	Dureté : _____	Apparence : _____
Cond. ($\mu\text{S}/\text{cm}$) : _____		

Commentaires : _____

Analyste : _____

ANNEXE 3

Feuille de travail : lixiviations successives

Client : _____ Échantillon : _____
Projet : _____ Identification : _____
Mode de conservation : _____
Date d'analyse : _____ Tamisage : 4 mm 9,5 mm
Heure (début) : _____ % eau extractible : _____
Quantité utilisée (g) : _____

Solvant utilisé : _____
Agitation : 20 tours/minutes
Décantation : 15 minutes
Centrifugation : 20 minutes à 2 500 g
Récupération du culot :

Caractéristiques des lixiviats recueillis

Lixiviat	Volume ajouté (ml)	Durée (min)	Volume recueilli (ml)	pH	Conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					

Commentaires : _____

Analyste : _____

ANNEXE 4

Feuille de travail : lixiviation en milieu acide (pH 5,5)

Client : _____

Échantillon : _____

Projet : _____

Identification : _____

Mode de conservation : _____

Date d'analyse : _____

Tamissage : 4 mm 9,5 mm

Heure (début) : _____

% eau extractible : _____

Quantité utilisée (g) : _____

Ajustement du pH à 5,3 ± 0,2			
Temps début	pH initial	pH ajusté / Vol HCl (ml)	Temps Fin
Jour 1			
Jour 2			

Quantité totale de HCl 0,5 N ajoutée : _____ ml (max. 200 ml)
 Quantité d'eau ajoutée : _____ ml

Centrifugation 20 minutes à 2 500 g
 pH : _____
 O.D. : _____ %
 Conductivité : _____ µS/cm
 Dureté : _____ mg/l de CaCO₃

Quantité de NaOH 0,1N ajoutée : _____ ml
 pH final : _____

Commentaires : _____

