



Surveillance environnementale

I/L'échantillonnage

Définition

L'échantillonnage est l'ensemble du processus ayant pour objet la réalisation d'échantillons représentatifs d'un milieu initial (sols, eaux de surfaces ou eaux souterraines, déchets..)

L'objectif de l'échantillonnage est d'être le plus représentatif possible du milieu qu'il est censé représenter

- L'identification des pollutions potentielles et le constat sommaire sur la sante humaine et sur l'environnement
- Le recueil des informations indispensables pour mettre en oeuvre la méthode d'évaluation simplifiée des sites.

Les échantillons doivent être pris et un nombre de caractéristiques pris en considération :

- De quel partie de l'environnement doit être échantillonner
- Combien d'échantillons doivent être pris pour couvrir les zones intéressantes et l'analyse statistique adéquate

Le temps de l'échantillonnage peut introduire des variations et des variations de saison doivent être prises en considération

II/Stratégie de l'échantillonnage

La mise au point d'une stratégie d'échantillonnage nécessite la réalisation des phases suivantes :

- Etudes préliminaire
- Analyses des prélèvements sur site et/ou en laboratoire
- Intégration des données
- Prises de décision

III/Plans d'échantillonnage

- Les sols
- Les eaux de surfaces
- Les eaux souterraines
- L'air ambiant
- Les déchets et produits non identifiés

Les principales caractéristiques d'un plan d'échantillonnage sont les suivantes

- Nombre de points d'échantillonnage (selon les objectifs, la taille du site, le type de contamination et le degré de précision souhaité)
- Profondeur des échantillons (fonction de l'étendue de la contamination et de la géologie locale)
- Nombre et type d'échantillons à prélever (échantillons ponctuels ou composites)
- Disposition des points de prélèvement

Les trois modes principaux de répartition des échantillons sur une surface à étudier sont :

•*L'échantillonnage systematique*

Realise selon une grille reguliere, couvrant toute la surface avec un echantillon preleve a chaque noeud de la grille ou au centre de chaque maille. La forme de la grille est variable (rectangulaire, circulaire, ou en triangle) ainsi que l'espacement des mailles (mailles carrees, traverses selon une direction, rayons d'un cercle..). ce mode d'échantillonnage est generalement utilises pour determiner l'extension d'une pollution et la decroissance des teneurs a partir d'une source a concentration maximale.

•*L'échantillonnage cible*

A priori ou les prelevements sont concentres dans une petite zone qui est estimee comme la plus critique. Il n'est pas facile de cibler precisement toutes les zones a risque sur un site idustriel.

•*L'échantillonnage au hasard*

Signifiant que les echantillons sont disperses de facon arbitraire sur toute la surface sans aucune regle predefinie. Il presente le desavantage de ne permettre la caracterisation reelle du site qu' avec difficulte. En effet ce type d'échantillonnage n'est efficace que si le site est parfaitement homogenece qui n'est pratiquement jamais le cas.

Le prélèvement

- Les prélèvements manuels (pelle, tarière, sonde...), cout faible, profondeur très réduite, rapide
- Les prélèvements de type excavation (pelle mécanique), cout moyen, profondeur moyenne, rapide
- Les prélèvements par forage en destructif : cout moyen à plus élevé suivant la profondeur atteinte
- Les prélèvements par carottage : cout très élevé, profondeur importante, très lent

Le protocole d'échantillonnage

Il n'existe pas de mode opératoire valable en toute circonstances, toutefois, les étapes fondamentales de tout protocole sont

- Enregistrements des données susceptibles d'influencer le prélèvement (conditions climatiques, température, localisation..)
- Collecte de l'échantillon dans un réceptacle de collecte en adéquation avec les analyses prévues et description de l'échantillon
- Conservation de l'échantillon
- Stockage et transport
- Décontamination du matériel
- Préparation de l'échantillon par le laboratoire (tamisage, homogénéisation..)

Echantillonnage de l'eau

L'échantillonnage de la plupart des eaux usées et des eaux contaminées est difficile due a leur nature hautement variable. Pour obtenir une analyse précise, les échantillons doivent être pris a travers une période de temps, a travers différentes sections de la direction de l'eau et a différentes profondeurs.

Les échantillons d'eau doivent être prélevés dans des receptients propres, rincés plusieurs fois avec l'eau a analyser, et fermes hermetiquement sans laisser des bulles d' air dans le flacon.

Pour les puits et les forages, un prélèvement effectuée sur une eau ayant longtemps stagne n'est pas représentatif de la nappe (pollution, pluie), il est donc nécessaire de pomper suffisamment longtemps pour renouveler l'eau. Pour obtenir des échantillons ponctuels a différentes profondeurs, il est possible d'utiliser des receptients lestés et munis de système de fermeture actionnable depuis la surface (hydrocapteurs)

Pour les eaux souterraines, il faut considérer les facteurs temporels comme l'époque de l'année, avant ou après la saison pluvieuse, il faut éviter le plus possible de perturber l'eau échantillonnée

Prélèvement de l'eau d'une source, d'un puits ou d'une conduite.

Le principe général est de remplir le flacon par le fond en faisant couler l'eau de manière laminaire et sans entraînement de bulles d'air dans un tube de prélèvement en acier inoxydable qu'on introduit jusqu'au fond du récipient. Ce tube peut être adapté sur un robinet de prélèvement ou placé dans le drain d'arrivée d'une source ou à l'émergence naturelle. Le prélèvement doit se faire le plus près possible de l'émergence de l'eau, à un endroit où l'eau souterraine n'a pas encore coulé de manière turbulente.

Prélèvement dans un plan d'eau.

Placer l'extrémité du tube flexible au fond du flacon et plonger le flacon, embouchure tournée vers le bas, sous le plan d'eau. L'air s'évacue par le flexible et l'eau entre dans le flacon de manière laminaire. Si possible, refermer le récipient sous l'eau en éliminant toute bulle d'air. Une légère surpression se formera ainsi dans le flacon.

Opérations d'échantillonnage d'eau

Le site d'échantillonnage dépend de l'hydrologie. Il est recommandé de :

- S'assurer qu'il y a bien un écoulement normal :
 - o Sur certains cours d'eau, en cas de fort étiage, il ne peut persister que quelques flaques sans réel écoulement. Il sera alors demandé de ne pas procéder à l'échantillonnage,
 - o En cas de rivière en forte crue, si le cours d'eau sort de son lit, il sera demandé de ne pas procéder à l'échantillonnage

Echantillonnage de l'air

Cet échantillonnage a les mêmes problèmes que l'eau mais aussi influence par la direction du vent et la force du vent. Les échantillons d'air sont recueillis de différentes façons:

- les échantillonneurs à grand débit (qui séparent les phases particulaire et gazeuse, de 500 à 2000 m³)

- type Faible Volume Cette méthodologie qui consiste à échantillonner quelques m³ d'air sur moins de 24h, à des débits de l'ordre de 1 à quelques litres par minute, est plutôt adaptée à l'étude de la dissipation de contaminants à proximité de sources d'émission, ou au contrôle sanitaire de l'exposition en milieu professionnel.

- les échantillonneurs passifs (qui recueillent la fraction de la phase gazeuse seulement, la période d'échantillonnage s'étend sur une période de l'ordre de quelques semaines).

Le but de l'échantillonnage est d'obtenir un échantillon représentatif et en général. On mesure les concentrations de polluants en espace clos de trois façons :

- Par prélèvements ponctuels
- Par prélèvements accumulés dans le temps
- Par une surveillance continue en temps réel l'échantillon est pompé directement

Exemples de méthodes de prélèvement

Sacs d'échantillonnage

Les sacs d'échantillonnage servent à recueillir certains gaz. Les phénomènes de diffusion à travers les parois et d'adsorption sur les parois du sac influencent le choix des matériaux pour un composé donné et la durée de conservation de l'échantillon. Ils sont fabriqués de différents matériaux polymérisés et sont disponibles en différents volumes.

Tubes adsorbants

Les tubes adsorbants sont utilisés pour prélever des échantillons sous forme de gaz et de vapeurs tels les vapeurs de solvants, certains gaz et acides. Ce sont des tubes de verre contenant deux sections d'adsorbant. Ces tubes peuvent contenir du charbon actif, du gel de silice ou certains polymères.

Barboteurs

Les barboteurs sont utilisés pour l'échantillonnage de quelques acides inorganiques et de quelques composés organiques. La solution collectrice contenue dans le barboteur est ensuite analysée afin de quantifier, soit directement le produit échantillonné, soit un produit résultant d'une réaction chimique entre la substance et la solution collectrice. Les barboteurs sont faits de verre ou de polyéthylène

L'analyse

Trois paramètres doivent être connus avant la réalisation de l'analyse:

- La limite de détection du composé, qui donnera la concentration minimum qui peut être détectée
- La variation trouvée avec la méthode d'analyse qui peut donner une estimation de la variation prévue entre les échantillons identiques.
- Combien de fois l'échantillon pris à quel point il est stable

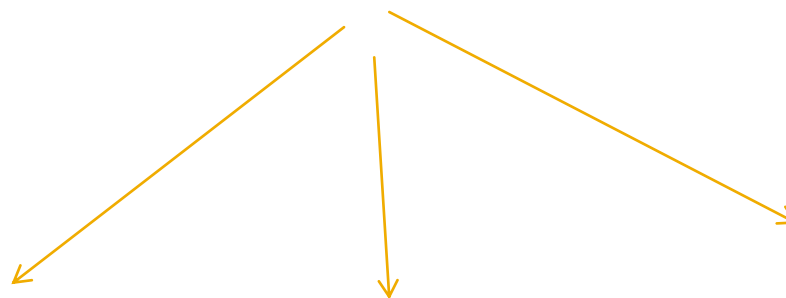
Le choix des techniques de préparation des échantillons et de l'analyse proprement dite dépend de

l'information
désirée
(identification,
quantification,
forme
chimique...

la nature des
analytes
(élément,
molécule,
radio-
isotope...), de
leur quantité

Le choix des
techniques de
préparation
des
échantillons et
de l'analyse
proprement
dite dépend
de

Methodes d'analyses



biologique

chimique

physique

Analyse physique et chimique

1-Gravimétrie

Utilise pour déterminer les solides suspendus (ss) et les niveaux de sulphate (SO_4)

2-Le Potentiel d'Hydrogène

Conductivité électrique (EC)

Potentiel redox (Eh)

Eléments en solution

L'oxygène dissous dans les eaux de surface provient essentiellement de l'atmosphère et de l'activité photosynthétique des algues et des plantes aquatiques. La concentration en oxygène dissous varie de manière journalière et saisonnière car elle dépend de nombreux facteurs

la pression partielle en oxygène de l'atmosphère, la température de l'eau, la salinité, la pénétration de la lumière, l'agitation de l'eau et la disponibilité en nutriments

Les Matières en Suspension Totales

La teneur et la composition minérale ou organique des matières en suspension dans les eaux sont très variables. Cependant des teneurs élevées en MEST peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuer l'oxygène dissous et limiter alors le développement de la vie aquatique et créer des déséquilibres entre diverses espèces.

La Demande Chimique en Oxygène

Elle s'exprime en milligramme par litre (mg/l) d'oxygène et correspond effectivement à la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder dans des conditions opératoires définies, les matières organiques présentes dans un échantillon donné.

La chromatographie en phase liquide (CPL ou HPLC) repose sur la séparation des substances présentes dans un mélange, par leur introduction, puis leur migration différentielle dans une colonne séparative (colonne chromatographique) parcourue par un liquide d'élution

Le couplage du module de séparation chromatographique avec des détecteurs spécifiques (spectromètre de masse, spectromètre d'absorption UV-Visible...) conduit à des instrumentations analytiques diverses (HPLC-MS, HPLC-UV...).

La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) permet de séparer des substances volatiles ou semi-volatiles issues d'un mélange complexe. Elle repose sur l'introduction du mélange par vaporisation dans une colonne séparative (colonne chromatographique), puis sur la migration différentielle (élution) des substances sous l'effet d'entraînement d'un gaz vecteur (par exemple, de l'hélium)

La spectrométrie d'absorption atomique repose sur le principe selon lequel des atomes peuvent absorber des photons d'une certaine longueur d'onde (caractéristique de l'élément analysé). Le nombre de photons absorbés étant relié au nombre d'atomes qui les absorbent, on peut ainsi en déduire la concentration de l'élément.

La spectrométrie infrarouge (IR) permet, par absorption moléculaire de rayonnement IR, de déterminer la nature des liaisons chimiques composant une molécule et donc d'échafauder des hypothèses structurales.

- dénombrement des cellules viables
- densité optique a différentes longueur d'ondes.

Les eaux destinées à la consommation humaine doivent avoir une DBO 5 de 0 mg/l. Les eaux superficielles de bonne qualité ont une DBO 5 égale à quelques mg/l.

La DCO représente l'ensemble des matières oxydables et la DBO 5 représente la part des matières organiques biodégradables. La différence entre la DCO et la DBO 5, représente la charge en matières organiques peu ou pas biodégradable

Pour les eaux usées domestiques le rapport est de 1.5 à 2. Ce qui correspond à une biodégradation facile. Il peut atteindre 2.5 à 3 sans inconvénient très sensible.

Les amorces
PCR universelle bactérienne

PCR spécifique bactérienne

Bioindicateurs et Biomarqueurs

Un indicateur biologique (ou bio-indicateur) est un organisme ou un ensemble d'organismes qui par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, ou écologiques - permet, de façon pratique et sûre, de caractériser l'état d'un écosystème et de mettre en évidence aussi précocement que possible leurs modifications, naturelles ou provoquées.

Un bio-marqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant.

La bio-surveillance peut donc être définie comme « L'utilisation des réponses à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement ».

On distingue généralement plusieurs types de biomarqueurs :

- Le biomarqueur d'exposition
- Le biomarqueur d'effet

L'utilité des biomarqueurs comme outil d'évaluation de la qualité de l'environnement:

- estimer la distribution de substances potentiellement toxiques
- mettre en évidence des réponses des organismes à l'exposition à des contaminants,
- établir des relations de cause à effet entre la présence des contaminants et les réponses biologiques,
- évaluer les conséquences de la contamination des individus sur des niveaux d'organisation biologiques plus élevés (populations, communautés), et finalement sur l'écosystème...

Différentes classes des biomarqueurs

Les biomarqueurs peuvent être classés dans trois groupes (biomarqueurs biochimiques, immunochimiques et génétiques)

- **Biomarqueurs biochimiques**
- **Biomarqueurs immunochimiques**
- **Biomarqueurs génétiques**

Les Bioindicateurs

Les principaux intérêts de la bio-indication sont les suivants :

1. c'est un ensemble de méthodes relativement faciles à mettre en oeuvre, rapides, de coût plus limité que celui d'une approche purement basée sur l'analyse chimique, et dont on peut multiplier le nombre de stations d'observation
2. elle donne la possibilité de détecter des polluants nouveaux ou accidentels non dosés par les capteurs traditionnels
3. enfin elle peut fournir une vision globale des perturbations fonctionnelles des écosystèmes

Les bioaccumulateurs idéaux

- des espèces opportunistes, tolérantes faces aux perturbations de l'environnement.
- Accumulent et non pas régule les contaminants ;
- L'espèce devrait être capable d'accumuler le polluant sans être tuée

- L'espèce devrait être sédentaire
- L'espèce devrait être abondante dans l'ensemble de l'aire
- Les espèces à forte longévité sont préférables
- L'espèce devrait être de taille suffisante
- L'espèce devrait être facile à échantillonner,

Les différents groupes d'êtres vivants connus dans la biosurveillance

Animaux

Les mollusques bivalves se nourrissant sur filtres sont connus pour accumuler les métaux lourds et constituent d'excellents indicateurs de contamination des eaux marines et continentales grâce à leurs fortes capacités de bioaccumulation. Les Moules, les huîtres ont été employées à vaste échelle dans la bio-surveillance des écosystèmes aquatiques en milieu marin *Sphaerium*, *Pisidium* etc. ont joué le même rôle en milieu d'eau douce.

Les poissons, en particulier, les téléostéens d'eau douce ou marins sont utilisés comme bio-indicateurs de pollution en milieu limnique ou océanique. On peut aussi observer et quantifier les modifications du comportement des poissons (rythme respiratoire, décharges électriques) face aux polluants présents dans l'eau.

les annélides oligochètes (*Eisenia*, *Lombricus*) sont utilisés comme bio-indicateurs de pollution des sols par les métaux lourds ou les composés organiques de synthèse

Les abeilles ; en butinant, les abeilles réalisent un échantillonnage des polluants et elles peuvent être utilisées comme bio-indicateurs de la pollution de l'environnement.

Végétaux

Végétaux supérieurs

Les polluants atmosphériques gazeux pénètrent généralement chez les végétaux supérieurs dans les feuilles par les stomates, les polluants particulaires étant le plus souvent stoppés et localisés à la surface des feuilles au niveau de la cuticule et des cires.

En milieu aquatique, plusieurs espèces végétales sont utilisées en raison de leur fort potentiel de bio-accumulation, telle que les mousses aquatiques comme *Fontinalis*, *Amblystegium*... Parmi les végétaux supérieurs, les *Typha* ou massettes, sont fréquemment utilisées comme bio-accumulateurs de métaux lourds, de PCB... Les plantes à bulbes et tubercules (carotte, arachide...) sont généralement d'excellentes espèces bio-accumulatrices des métaux lourds des sols contaminés.

Les lichens sont très souvent utilisés comme bio-accumulateurs. Les espèces choisies sont généralement des espèces poussant sur les troncs, et présentant une répartition géographique assez large permettant des récoltes en quantités suffisantes

Le tabac ; c'est une plante sensible aux pollutions, au point de les débusquer. Plus l'air est chargé en ozone, plus la plante se nécrose et se couvre de tâches rougeâtres.

Les biosenseurs

Un biosenseur utilise essentiellement les réactions spécifiques du matériel biologique comme les enzymes et les anticorps avec des molécules pour détecter et quantifier ces molécules souvent en mixtures complexes. Le biosenseur donne une détermination continue (on line) du composé.

Les avantages

- Détection online (surveillance en temps réel)
- Réponse rapide
- Réponse très spécifique
- Sensibilité élevée dans certains cas
- Coûts bas et opérations plus rapides que les méthodes conventionnelles
- Système portatif

Dans un biosenseur DBO biofilm, un biofilm microbien est en sandwich entre une membrane poreuse et une membrane perméable à O₂, un changement dans la culture microbienne sera proportionnel au contenu métabolisable du matériel à être mesuré. Dans certains cas, le signal électrique de l'électrode d'oxygène a été remplacé par des signaux optiques en utilisant la bactérie luminescente *P.phosphoreum*

•L'algue commune *Chlorella vulgaricus*, *S. capricornatum* et *S. subspicatus* sont souvent utilisés pour représenter le niveau trophique 1. Le test s'effectue par l'exposition de culture d'algues aux polluants 3 à 4 jours et la réduction dans la vitesse de croissance est utilisée pour calculer la valeur EC50. Le résultat du test peut être affecté par les conditions de culture comme les espèces tests, le volume de culture et l'intensité de la lumière.

• D'autres plantes aquatiques ont été proposées comme l'alternative aux microalgues incluant : duckweed, *Eloidea canadensis* et les phytoplanctons. Les algues marines ont été aussi proposées incluant les algues filamenteuses *Ceranium strictum*, *Phaedactylum tricornutum* et *Champia parvula*.

Dans le niveau trophique 2, l'organisme principal utilisé est la *Daphnia* et *Artemia salina* (crevettes), l'effet du polluant est estimé par un nombre d'organismes immobilisés après 24h d'exposition

• Dans le niveau trophique 3, il n'y a pas de test organisme possiblement à cause de leur similarités en réponse aux organismes de niveau 4. Les organismes tertiaires sont des carnivores comme les poissons.

• Le groupe final, niveau 5, représente le top de la chaîne alimentaire et comprends un nombre d'espèces d'oiseaux.

Organismes luminescents

Microtox TM, Biotox TM, Tox Alert^R sont des systèmes qui utilisent la réduction dans l'émission de la lumière par des bactéries luminescentes comme *Photobacterium fischeri* et *P. phosphoreum* comme une mesure de la toxicité d'un composé à travers une période d'exposition de 15 mn.

Test d Ames

Ce test a été développé pour tester les substances pour leur capacité à produire des mutations chez les bactéries.