

**EVINERUDE**  
Etudes et Gestion en Environnement

Bureau d'études  
en environnement

## Mémoire justificatif

### **SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE PAR BIOACCUMULATION**

### **SURVEILLANCE DES RETOMBÉES ATMOSPHERIQUES**

### **SMECTOM DU PLANTAUREL**

PROP N°11EV063\_B IOTOXSMECTOM\_20120215A

**BIOTOX**

**MARINE ST-DENIS**

**18 IMPASSE DE LA FAUVETTE**

**33400 TALENCE**



*Espace Saint Germain  
30 Avenue du Général Leclerc  
38 200 VIENNE*

*Tél/Fax : 04-74-87-20-56*

*contact@evinerude.fr*

*[www.evinerude.fr](http://www.evinerude.fr)*

*Sarl au capital de 10 000 Euros  
RCS Vienne B 489 941 260 - **SIRET 489.941.260.00023**  
N°TVA Intracom. FR 58 489 941 260*

## Table des matières

<b>I – Présentation d’Evinerude .....</b>	<b>1</b>
<b>II – Références « qualité de l’air » – Investissement en R&amp;D (références complètes en annexe) ...</b>	<b>1</b>
A) <i>Références récentes similaires à la présente proposition .....</i>	<i>1</i>
B) <i>Recherche et développement dans le domaine.....</i>	<i>2</i>
C) <i>Participation aux sessions d'été de l'AFL.....</i>	<i>2</i>
<b>III – Objectifs de l’étude.....</b>	<b>2</b>
<b>IV – Suivi des PCDD/F et métaux dans les lichens .....</b>	<b>3</b>
A) <i>Objet.....</i>	<i>3</i>
B) <i>Principe de la bioaccumulation .....</i>	<i>3</i>
C) <i>Les lichens .....</i>	<i>4</i>
D) <i>Localisation des sites de prélèvements et traitement des échantillons .....</i>	<i>5</i>
1/ <i>Conception de l'échantillonnage .....</i>	<i>5</i>
2/ <i>Précisions sur les prélèvements.....</i>	<i>5</i>
3/ <i>En laboratoire .....</i>	<i>6</i>
<b>V – Rendus .....</b>	<b>7</b>
A) <i>Présentation du programme de surveillance.....</i>	<i>7</i>
B) <i>Présentation des résultats.....</i>	<i>7</i>
C) <i>Interprétation quantitative des résultats .....</i>	<i>7</i>
<b>VI – Calendrier de réalisation .....</b>	<b>7</b>
<b>VII – Proposition financière .....</b>	<b>8</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>9</b>

## I - Présentation d'Evinerude

Evinerude est un bureau d'études en environnement. Créé depuis mai 2006, Evinerude

- **intervient notamment dans les évaluations environnementales et diagnostics écologiques ;**
- **réalise des inventaires naturalistes faune/flore/habitats inhérents aux aménagements des collectivités locales :**
  - o **dans leurs documents d'urbanisme,**
  - o **dans le cadre d'étude d'impact environnemental ;**
- **est conseiller auprès des organismes de gestion de zones naturelles protégées ou non, tels les Parcs Naturels Régionaux.**

Grégory Agnello est notre lichénologue attitré, ses références sont en annexes.

## II - Références « qualité de l'air » - Investissement en R&D (références complètes en annexe)

### A) Références récentes similaires à la présente proposition

#### Participation aux commissions de normalisation

A noter qu'Evinerude fait partie de la commission de normalisation au sein de l'AFNOR et du CEN (Comité Européen de Normalisation) concernant les normes de biosurveillance atmosphérique.

#### Analyses de la qualité de l'air par bio-accumulation lichénique autour d'incinérateur d'ordures ménagères

- SETOM de l'Eure (2008 et 2010)
  - SMITOM de la Tarentaise (2009 à 2011)
  - SYCTOM de Paris (2009 à 2011)
  - SITOM Nord-Isère (2011)
- } En partenariat avec Biomonitor et micropolluants technologies.
- En partenariat avec Biotox et CARSO.

L'analyse de la qualité de l'air par la bioaccumulation est pour nous une méthode avérée et appliquée depuis la création d'Evinerude. Elle se décompose en 4 temps :

- La première partie de terrain consiste à s'imprégner de la flore présente et de choisir quelle espèce sera utilisée, en fonction de son abondance et de sa connaissance dans la littérature.
- Vient ensuite la récolte en elle-même avec toutes les précautions nécessaires pour éviter la contamination des échantillons (gants, scalpels stériles...). Ces derniers sont alors placés en conditions de température basse pour éviter l'évaporation de certains composés comme le mercure.
- Après nettoyage des impuretés (débris, bois, insectes...), les échantillons sont envoyés en laboratoire d'analyse pour le dosage des éléments.

- Les résultats des analyses laboratoires sont ensuite interprétés, à partir des analyses précédente et des témoins lorsqu'il s'agissait d'un suivi de la qualité de l'air ou bien de la bibliographie générale lorsqu'il s'agissait d'une primo-analyse.

## B) Recherche et développement dans le domaine

- Le plus important par la taille est soutenu par la région Rhône-Alpes et porte sur la **biosurveillance lichénique en vallée du Rhône (départements du Rhône, de l'Isère et de la Loire)**. En partenariat avec l'Université Joseph Fourier de Grenoble, nous procédons à l'étude des retombées atmosphériques sur les écorces d'arbres et leurs impacts sur la flore lichénique – pour cela nous utilisons la norme AFNOR afin de calculer un Indice Biologique de Lichens Epiphytes. Des dosages de métaux et autres contaminants furent réalisés durant les étés 2009 et 2010. Au vu des résultats particulièrement intéressants, une troisième année d'étude est en cours.
- Deuxième travail réalisé pour Conseil Général de l'Isère dans un Espace Naturel Sensible de la chaîne de Belledonne (30 km de Grenoble). **L'étude de la biodiversité lichénique sur le site** a montré une modification de cette flore en relation avec les changements des composants atmosphériques anthropiques. Ces résultats probants furent présentés en septembre dernier lors d'un congrès international de biosurveillance en Argentine (BioMap). Un article est paru courant du printemps 2010 dans une revue internationale (International Journal of Environment and Health). Fort de cette collaboration avec le Conseil Général de l'Isère, une nouvelle étude vient de démarrer cet hiver mettant encore une fois en avant les lichens comme outil privilégié de biosurveillance en sites naturels sensibles.

## C) Participation aux sessions d'été de l'AFL

Chaque année, l'Association Française de Lichénologie propose à ses adhérents une sortie de terrain sur plusieurs jours, en différents lieux de France. Ces sessions sont l'occasion de découvrir les différents milieux (de la plaine au montagnard), les climats variés (océanique à méditerranéen) ainsi que tous les substrats sur lesquels les lichens vivent et prolifèrent.

2002 Pyrénées du Pays Basque	2008 Pas-de-Calais
2003 Mont Ventoux	2008 Ardèche méridionale
2004 Pyrénées de l'Ariège	2009 Lubéron
2005 Lozère	2010 Landes
2006 Vosges	2010 Hérault (Cévennes et côte)
2007 Finistère (Mont d'Arrhéés et côte)	2011 Haute-Corse (Monte Cinto et côte)

## III - Objectifs de l'étude

Il a été défini un cahier des charges visant à réaliser une surveillance de l'impact sur l'environnement au voisinage du centre de stockage des déchets de Manges. Par l'application d'un plan d'échantillonnage, l'objectif est de réaliser des campagnes d'analyse de PCDD/F et de métaux dans les lichens. Les mesures réalisées doivent permettre ensuite d'appréhender l'impact éventuel de l'activité du site sur son proche environnement.

Dans le cadre de cette étude, **Evinerude** aura en charge :

- les contacts avec les personnes locales concernées,
- le prélèvement des différents échantillons,
- la gestion des échantillons,
- la rédaction du rapport,

**Micopolluants technologies** aura en charge l'analyse, les dosages demandés des échantillons. La société est accrédité COFRAC selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 sous le numéro 1-1151.

## IV - Suivi des PCDD/F et métaux dans les lichens

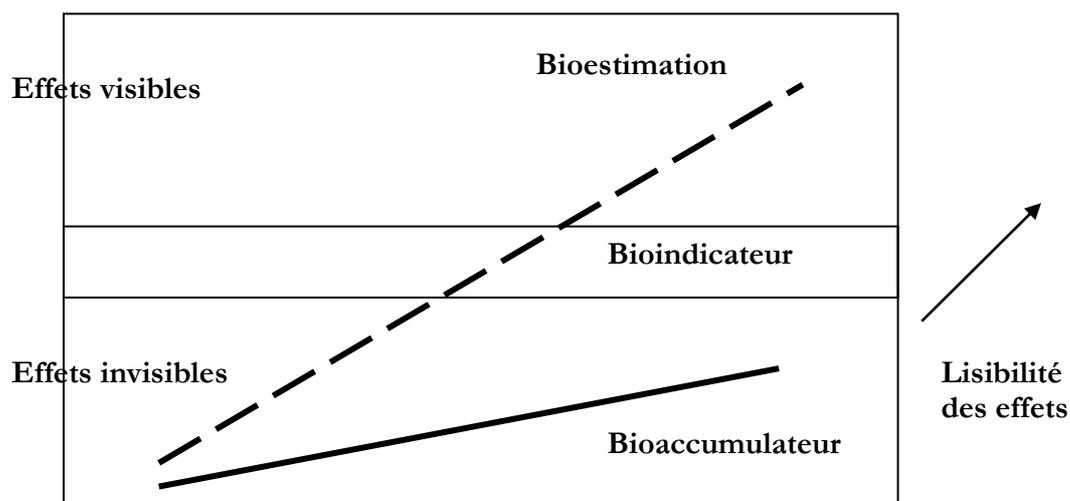
### A) Objet

La méthode d'évaluation proposée ici, est fondée sur le caractère bioaccumulateur des lichens, où leur capacité à stocker des éléments présents dans l'atmosphère – éléments dosables après analyses en laboratoire. Grâce à cela, nous obtenons des concentrations représentatives de la pollution atmosphérique aux abords de l'usine d'incinération.

### B) Principe de la bioaccumulation

Pour surveiller la qualité de l'air, des réseaux de capteurs sont couramment utilisés. Ils permettent de réaliser des mesures physico-chimiques et de donner une valeur numérique, sans pour autant indiquer avec certitude un effet toxique associé à ces valeurs numériques et leurs effets de synergie. La biosurveillance permet de combler cette lacune : grâce à des organismes résistants (ici les lichens), on peut estimer la quantité totale d'un polluant accumulé à l'intérieur au bout d'un temps donné, sans que cette accumulation ne perturbe le métabolisme de l'organisme, l'individu devient alors un capteur vivant et non plus un modèle d'étude.

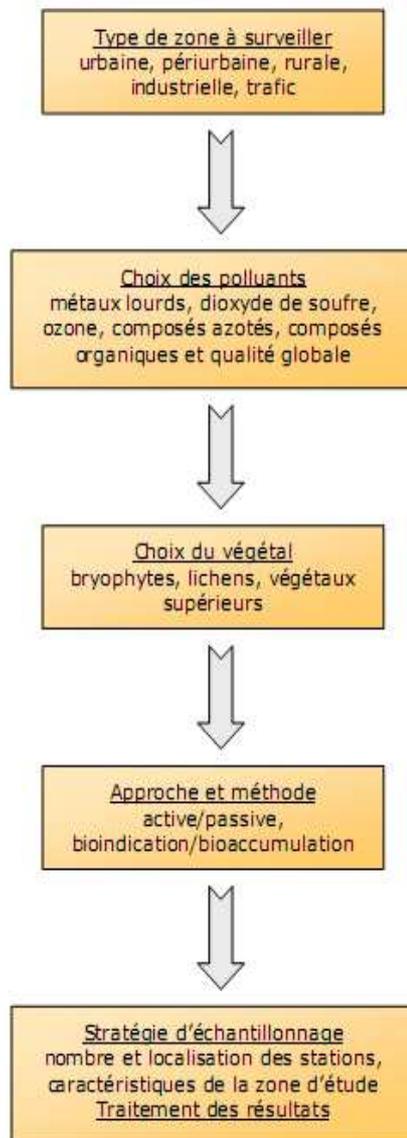
Le dessin suivant permet de comprendre un peu mieux le principe de la bioaccumulation.



D'après Garrec & Van Haluwyn, 2002.

## C) Les lichens

D'une manière générale, la démarche d'une étude par bioindication est la suivante.



Le choix des lichens comme bioindicateurs est motivé par plusieurs points :

- Contrairement aux végétaux supérieurs, ils sont dépourvus de moyens de lutte contre la pollution (pas de cuticule cireuse, pas de stomates, pas de système d'excrétion, structure végétative sous forme de thalle se traduisant par un ratio surface/volume très élevé).

- N'ayant ni racine, ni tige, ni feuille, ni appareil conducteur, ils sont incapables d'effectuer une régulation hydrique. Ils sont soumis aux fluctuations du milieu et peuvent absorber et accumuler sans distinction des quantités très importantes de substances prélevées dans l'atmosphère (air, eau, poussières, substances et gaz dissous). Ils sont ainsi soumis obligatoirement aux retombées des contaminants présents à la fois dans les dépôts secs et dans les dépôts humides, aussi bien gazeux que particulaires.

- Leur activité photosynthétique continue, leur taux de croissance très faible, leur grande longévité et leur productivité très faible font des lichens des espèces particulièrement sensibles utilisées dans la détection des pollutions (pollution acide, fluorée, métaux lourds, radioactivité...).

Compte tenu du nombre important d'arbres qui peut être présent dans une zone géographique donnée et de la présence de lichens sur ce support sur une très

longue période de temps, ils constituent un matériel d'observation de choix dans l'évaluation de la qualité de l'air appliquée au cas des suivis spatio-temporels par le fait que cette méthode n'implique aucune contrainte d'entretien sur les sites d'étude (les lichens s'y développant de façon totalement naturelle). La densité des points d'observation des communautés lichéniques, généralement très nettement supérieure à celle des points de mesures des capteurs physico-chimiques, permet de couvrir des sites et/ou des secteurs que les réseaux ne peuvent surveiller ou ne surveillent pas.

## D) Localisation des sites de prélèvements et traitement des échantillons

L'étude à venir étant un suivi, la localisation des 4 sites de prélèvements est d'ores et déjà réalisée.

### 1/ Conception de l'échantillonnage

Un code de prélèvement sera attribué à chaque échantillon, reprenant les références de l'année passée si le site est identique. Dans le cas contraire avant l'attribution d'un nom officiel, ce code pourra se présenter de telle manière : le numéro 120405-S1 référence un prélèvement réalisé le 5 avril 2012 sur le premier site observé, afin de l'identifier clairement une fois en laboratoire.

### 2/ Précisions sur les prélèvements

Une seule espèce de lichen est sélectionnée, suffisamment abondante pour permettre l'échantillonnage répété au fil du temps. Bargagli et Nimis (2002) recommandent un lichen arbustif (frutescent) ou un lichen à feuilles larges et lobées (foliacé). L'espèce épiphyte suivante a souvent été utilisée dans le cadre d'études : *Xanthoria parietina*. Mais l'espèce prélevée pour les travaux antérieurs sera recherchée prioritairement.

Une bonne poignée de matériel (>7g poids séché à l'air) est nécessaire comme échantillon de chaque site de prélèvement. Une règle générale est d'échantillonner une poignée mais pas plus que le 10<sup>ème</sup> de ce qui est présent sur un site. Les prélèvements doivent s'effectuer tout autour du tronc.

Dans la mesure du possible, les lichens sont prélevés lorsqu'ils sont secs pour éviter toute décomposition lorsqu'ils sont entreposés humides. De plus, Bargagli et Nimis (2002) recommandent de prélever des lichens au moins une semaine après de fortes précipitations car les eaux de ruissellement ont un double effet : elles lavent l'individu et déposent en même temps toute la matière dissoute et récoltée sur les feuilles et/ou l'écorce.

Un bon spécimen est un individu de taille moyenne (pour l'espèce retenue), non nécrosé, prélevé sur un tronc droit de manière à ne pas être influencé par l'écoulement des eaux de pluie. Plusieurs échantillons (3 au minimum) de la même espèce sont enlevés tout autour du tronc, entre 1 et 2 m par rapport au niveau du sol. Un traitement identique est réalisé sur les différents arbres du site (là encore, 3 au minimum), espacés d'une dizaine de mètres au moins entre eux. Cela permet de moyenniser les données mais surtout d'obtenir une quantité de matériel suffisante.

Les quantités de polluants que l'on veut mesurer à partir des échantillons, sont suffisamment faibles pour qu'un certain nombre de précautions soit nécessaire afin d'éviter toutes contaminations extérieures. Il est donc logique de se servir d'instruments et d'outils de prélèvements ou de stockage non en métal (en céramique par exemple, ou en plastique, les ustensiles de pique-nique étant un bon compromis) ou alors en inox mais uniquement si ces derniers sont en bon état. De même, il faut éviter de toucher l'échantillon avec les mains et le port de gants non talqués est important.

Immédiatement après le prélèvement, l'échantillon doit être placé dans un contenant qui sera lui-même scellé jusqu'au début de l'étude en laboratoire. Il est alors placé à l'obscurité et dans un lieu à température modérée voire basse (glacière, pièce froide...).

Une fiche de prélèvement sera soigneusement complétée selon les caractéristiques du site, et jointe à l'échantillon en tant que fiche d'identité, pouvant servir *a posteriori* à l'interprétation des résultats. Des photographies seront aussi régulièrement effectuées.

### 3/ En laboratoire

Dès que l'on revient du site, les échantillons sont sortis (si l'espace est sain de toute pollution potentielle : tabac, fumée quelconque...) pour permettre aux lichens de sécher à l'air pendant la nuit à température ambiante.

Selon les éléments à analyser, il faut penser à ne pas les exposer à une trop grosse chaleur pour éviter l'évaporation, du mercure entre autre.

Les échantillons ne doivent pas être "lavés" mais une fois séchés, ils sont débarrassés de leurs impuretés (écorce, autres lichens, mousses, animaux...) sous hotte et avec des gants, toujours avec des ustensiles adéquats.

Ils sont ensuite envoyés en express auprès d'un laboratoire d'analyses qui se chargera des mesures attendues par le donneur d'ordre.

Les dioxines/furanes seront analysées par chromatographie gazeuse haute résolution couplée à un spectromètre de masse haute résolution (HRGC/HRMS) suivant les méthodes EPA 1613. L'incertitude sur l'analyse de PCDD/F est de 5 à 15 %. La **limite de détection** des différents congénères est de **0,6 pg/g I-TEQ**. Les résultats sont ensuite exprimés en quantité de polluants par gramme de matière sèche (pg OMS-TEQ/g de MS).

Les analyses de métaux portent sur 13 métaux (**voir tableau 1**). Les analyses seront réalisées :

- après digestion acide puis par AFS selon méthode interne Mop C-4/47 V0 et NF EN ISO 17852 pour le mercure,
- après digestion acide puis par ICP-MS selon une méthode interne Mop C-4/18 V5 pour les autres métaux.

L'incertitude tolérée sur la mesure est de 20% sur la base du contrôle d'étalonnage journalier des appareils. Les limites de quantification relatives aux métaux sont présentées dans le **tableau 1** ci-après.

**Tableau 1** : Présentation des limites de quantification des métaux.

Aliment non gras/végétaux	
LQ mg/kg MS	
As	0,025
Cd	0,025
Co	0,13
Cr	0,13
Cu	0,13
Hg	0,025
Mn	0,13
Ni	0,13
Pb	0,025
Sb	0,13
Tl	0,13
V	0,13
Zn	0,25

LQ: limite de quantification  
MS: matière sèche

## V – Rendus

### A) Présentation du programme de surveillance

Sera intégré dans le rapport d'étude :

- une introduction rappelant le cadre et l'objectif de l'étude,
- un chapitre détaillant la ou les méthodes employées,
- les dates de prélèvement,
- un tableau détaillant les coordonnées géoréférencées des stations (à l'aide d'un GPS),
- des photos des stations,

### B) Présentation des résultats

Les bulletins d'analyse des laboratoires seront placés en annexe et pour chaque matrice, les résultats seront présentés sous forme de :

- **tableaux** présentant l'ensemble des résultats obtenus par polluant,
- **histogrammes** : les données obtenues seront synthétisées sous forme d'histogrammes permettant de visualiser les valeurs observées sur chaque station et de suivre l'évolution des concentrations en fonction de la station et en fonction des phases d'exposition.

### C) Interprétation quantitative des résultats

Dans un premier temps, les données recueillies sur les stations feront l'objet d'une interprétation compréhensible par des non spécialistes, selon les outils d'interprétation décrits dans cette proposition.

Dans un deuxième temps, il s'agira également d'utiliser les données acquises pour :

- définir des zones d'impact des polluants,
- suivre l'évolution des dépôts en fonction de l'éloignement par rapport aux sources,
- suivre l'évolution des résultats en fonction des années.

Evinerude propose *a minima* l'édition d'une carte localisant les stations de prélèvements.

## VI – Calendrier de réalisation

Phase	Objet de la campagne complète	Chronologie
I	<input type="checkbox"/> Ordre de service	T <sub>0</sub>
	<input type="checkbox"/> Collecte des données nécessaires	T <sub>0</sub> + 3 jr
II	<input type="checkbox"/> Prélèvements	T <sub>0</sub> + 8 jrs
III	<input type="checkbox"/> Traitement des échantillons et procédures d'analyse des dioxines/furannes et des métaux	T <sub>0</sub> + 16 jrs
IV	<input type="checkbox"/> Réception des résultats d'analyse	T <sub>0</sub> + 33 jrs
V	<input type="checkbox"/> Transmission des rapports d'étude	T <sub>0</sub> + 40 jrs

## VII - Proposition financière

Les prix présentés ci-dessous s'entendent frais de déplacements inclus.

	<b>Expertise Terrain Unité jour</b>	<b>Expertise Bureau Unité jour</b>	<b>Analyses chimiques ETM - Diox/Fur</b>	<b>Total par étape &amp; par phase</b>
	<b>800 €</b>	<b>500 €</b>	<b>2 400 €</b>	
<b>Projet Bioaccumulation</b>				
Prélèvements lichens	1			800 €
Tri		2		1 000 €
Analyses			1	2 400 €
Rapport		1,5		750 €
<b>Total jours projet</b>	<b>1</b>	<b>3,5</b>		<b>4,5</b>

<b>TOTAL en euros HT</b>	<b>4 950,00 €</b>
--------------------------	-------------------

<b>TVA 19,6%</b>	<b>970,20 €</b>
------------------	-----------------

<b>TOTAL en euros TTC</b>	<b>5 920,20 €</b>
---------------------------	-------------------

Ce devis est valable 3 mois.

Proposition de facturation :

- 30 % à la commande,
- 70 % au rendu du rapport final.

## Bibliographie

- ADEME – 2005. *Pollution atmosphérique par les métaux - Biosurveillance des retombées*. ADEME / EDP Sciences, 120p.
- AGNELLO G., MANNEVILLE O. et ASTA J. – 2004. *Mousses et lichens, bioindicateurs (s.l.) de l'état des zones humides: exemples de quatre sites protégés du Département de l'Isère (France)*. Revue Ecologie Terre et Vie 59 (1-2), 147-162.
- AGNELLO G., CATINON M., AYRAULT S., ASTA J., TISSUT M., and RAVANEL P. – 2010. *A comparative study of atmospheric deposits and lichen populations in a protected alpine area in the Grenoble region (France)*. International Journal of Environment and Health, vol. 4 n°2/3, pp 235-249.
- BARGAGLI R. – 1998. *Lichens as biomonitors of airborne trace elements*. In : Bargagli R. *Trace elements in terrestrial plants. An ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery*. Springer, Berlin, pp 207-236.
- BARGAGLI R. & MIKHAILOVA I. – 2002. *Bioaccumulation of inorganic compounds*. In : Nimis P.L., SCHEIDEGGER C., WOLSELEY P.A., *Monitoring with lichens – Monitoring lichens*. Kluwer, The Netherlands, pp 65-84.
- BARGAGLI R. & NIMIS P.L. – 2002. *Guidelines for the use of epiphytic lichens as biomonitors of atmospheric deposition of trace elements*. In : Nimis P.L., SCHEIDEGGER C., WOLSELEY P.A., *Monitoring with lichens – Monitoring lichens*. Kluwer, The Netherlands, pp 295-299.
- CATINON M., AGNELLO G., AYRAULT S., BOUDOUMA O., ASTA J., TISSUT M., RAVANEL P. – 2009. *Projet Recherche et Développement : Suivi de l'évolution de la pollution atmosphérique cumulée d'un secteur de la vallée du Rhône, en aval du "couloir de la chimie"*. Rapport, 76p.
- CUNY D., VAN HALUWYN C., PESCH R. – 2001. *Biomonitoring of trace elements in air and soil compartments along the mayor motorway in France*. Water, Air and Soil Pollution, n°125, pp 273-289.
- FERRETTI, M. & ERHARDT W. – 2002. *Key issues in designing biomonitoring programs. Monitoring scenarios, sampling strategies and quality assurance*. In : Nimis, Luigi, Christoph Scheidegger et Patricia Wolseley; eds. *Monitoring with lichens – Monitoring Lichens*. Kluwer Academic Publishers. Londres, pp 111-139.
- GALSOMIES L., SAVANNE D., LETROUIT M.A., AYRAULT S. & CHARRE B. – 1999. *Retombées atmosphériques de métaux en France : estimation par dosage dans les mousses*. Campagne 1996. ADEME Editions, Paris, 188p.
- GARREC J.P. & VAN HALUWYN C. – 2002. *Biosurveillance végétale de la qualité de l'air : concepts, méthodes et applications*. Ed. Tec et Doc. 117p.
- GOMBERT S. – 1999. *Utilisation de la bioindication lichénique dans l'estimation de la qualité de l'air de l'agglomération grenobloise : étude à différents niveaux d'organisation biologique*. Thèse de doctorat ès sciences, université Joseph Fourier, Grenoble I, 287p.
- KHALIL K. – 2000. *Utilisation de bioindicateurs végétaux (lichens et tabac) dans la détection de la pollution atmosphérique de la région lyonnaise*. Thèse de doctorat ès sciences, université Joseph Fourier, Grenoble I, 284p.