

UN/SCEGHS/3/INF.15

Sub-Committee of Experts on the Globally
Harmonized System of Classification
and Labelling of Chemicals
(Third session, 10-12 July 2002)

SYSTÈME GÉNÉRAL HARMONISÉ DE CLASSIFICATION ET D'ÉTIQUETAGE DES PRODUITS CHIMIQUES

Annexe 10:

**Document d'orientation sur la transformation/dissolution des métaux et des
composés métalliques en milieu aqueux**

**(voir document ST/SG/AC.10/C.4/2001/11, Annex 3,
OECD Guidance document No. 29,
traduction préparée par l'OCDE)**

Publications de l'OCDE sur l'hygiène et la sécurité de l'environnement

Série sur les essais et évaluations

N°29

**Document d'orientation sur la transformation/dissolution des métaux
et des composés métalliques en milieu aqueux**

Direction de l'environnement

ORGANISATION DE COOPÉRATION ET DE DÉVELOPPEMENT ÉCONOMIQUES

Paris

Avril 2001

AVANT-PROPOS

Dans le cadre d'un effort international mené à plus grande échelle en vue d'harmoniser les systèmes de classification des dangers au niveau mondial, les groupes de travail techniques sont convenus d'un ensemble de critères destinés à former la base d'un système mondial de classification des substances dangereuses pour les organismes aquatiques. Ce système est régi par un accord international sur la classification des dangers associés aux substances. Ces critères ont été approuvés par la Réunion conjointe de l'OCDE en novembre 1998 et font partie du Système mondial de classification des produits chimiques (GHS) qui sera mis en oeuvre par le Conseil économique et social des Nations Unies en 2001. En élaborant les critères, les parties ont décidé que, pour être suffisamment précise, la définition des dangers pour l'environnement devait s'appuyer sur un système complexe nécessitant des orientations adéquates. L'explication détaillée du système mondial de classification des substances dangereuses pour les organismes aquatiques, qui figure dans la proposition harmonisée, se réfère à plusieurs reprises à un document d'orientation. Ce document d'orientation a été publié dans la Série sur les essais et évaluations (numéro 27) des publications sur l'hygiène et la santé de l'environnement.

Le septième chapitre de ce document d'orientation a trait à la classification des métaux et des composés métalliques. L'un des principaux thèmes de ce chapitre est la biodisponibilité des métaux et/ou des composés métalliques. Un atelier de l'OCDE sur les essais de toxicité, pour les organismes aquatiques, des métaux, composés métalliques minéraux et minéraux peu solubles, tenu à Ottawa en 1995, a étudié cette question et conclu à la nécessité d'élaborer un protocole sur la transformation et la dissolution des métaux et des composés métalliques en milieu aqueux. Le Groupe de travail sur les métaux a piloté la rédaction de ce protocole jusqu'en mars 2000, date à laquelle il a fusionné avec le Groupe d'experts sur les dangers pour le milieu aquatique. Les participants à la 6^{ème} réunion du nouveau Groupe d'experts élargi sur les dangers pour le milieu aquatique ont convenu que le protocole, alors en voie d'achèvement, devrait former un document séparé.

Ce document est le fruit des efforts entrepris par un Groupe d'experts ad hoc constitué par le Groupe d'experts élargi.

La version actuelle du protocole, telle qu'elle est incluse dans le présent document d'orientation, fait l'objet d'un examen en vue de sa validation internationale officielle. Elle pourrait donc être remaniée en fonction des résultats de la validation et sera révisée après l'achèvement de cet exercice, le cas échéant.

INTRODUCTION

1. Cette orientation pour les essais est destinée à déterminer la vitesse et l'ampleur de la formation de composés métalliques, sous une forme soluble, ionique et libre ou autre, à partir de composés métalliques peu solubles et de métaux, en milieu aquatique, dans une série de conditions de laboratoire prédéterminées, représentatives de celles qui règnent généralement dans la nature. Une fois obtenues, ces informations peuvent servir à évaluer la toxicité à court et long termes, en milieu aquatique, du métal ou du composé métallique peu soluble qui a engendré l'espèce soluble. Cette orientation pour les essais est le fruit d'une initiative internationale coordonnée par l'OCDE, visant la mise au point d'une approche pour les essais de toxicité et l'interprétation des données se rapportant aux métaux et aux composés métalliques minéraux peu solubles [référence à l'atelier d'Ottawa (1) et au chapitre 7 du document d'orientation]. À la suite d'une série de réunions et discussions [références 1,2,3,4 + chapitre 7] tenues récemment au sein de l'OCDE et de l'UE, les travaux expérimentaux sur plusieurs métaux et composés métalliques sur lesquels se fonde cette orientation pour les essais ont été menés et consignés dans des rapports [références 5 à 11].

2. L'évaluation de la toxicité à court et long termes, en milieu aquatique, des composés métalliques peu solubles et des métaux s'effectue par une comparaison entre a) la concentration de l'ion métallique en solution, résultant de la transformation ou de la dissolution dans un milieu aqueux normalisé et b) les valeurs de référence pertinentes de l'écotoxicité obtenues avec le sel métallique soluble (toxicité aiguë et chronique). Le présent document oriente la réalisation des essais de transformation/dissolution. La marche à suivre pour établir une classification des dangers pour l'environnement à l'aide des résultats obtenus au moyen du protocole de dissolution/transformation sort du cadre de ce document d'orientation et est décrite ailleurs (référence au chapitre 7 du document d'orientation).

3. Aux fins de cette orientation pour les essais, les transformations des composés métalliques peu solubles et des métaux sont définies et caractérisées comme suit :

(1) Les métaux à l'état élémentaire, M^0 , ne sont pas solubles dans l'eau, mais peuvent se transformer en forme libre. Autrement dit, un métal à l'état élémentaire peut, en réagissant avec le milieu, former des cations ou des anions solubles ; au cours de ce processus, le métal s'oxyde, c'est-à-dire qu'il passe de l'état d'oxydation zéro (neutre) à un état d'oxydation supérieur.

(2) Dans un composé métallique simple, tel qu'un oxyde ou un sulfure, le métal se trouve déjà à l'état oxydé, si bien qu'il a peu de chances de s'oxyder davantage lorsque le composé est introduit dans un milieu aqueux. Toutefois, si l'état d'oxydation ne change pas, l'interaction avec le milieu risque d'engendrer d'autres formes solubles. On considère qu'un composé métallique peu soluble engendre une petite quantité de la forme libre par dissolution et que son produit de solubilité est calculable. Il faut cependant reconnaître que la concentration de la solution finale peut être influencée par plusieurs facteurs, dont le produit de solubilité de certains composés métalliques précipités durant l'essai de transformation/dissolution, par exemple l'hydroxyde d'aluminium.

PRINCIPES

4. Cette orientation pour les essais se propose de fournir un protocole de référence pour les essais de transformation/dissolution en laboratoire ; ce protocole est fondé sur une procédure expérimentale simple consistant à agiter différentes quantités de la substance d'essai dans un milieu aqueux tamponné et à prélever puis à analyser des solutions à intervalles de temps fixés, afin de déterminer les concentrations des ions métalliques dissous dans l'eau. Le présent document décrit deux types d'essais :

A. Essai préliminaire de transformation/dissolution – composés métalliques peu solubles

5. Pour les composés métalliques peu solubles, la concentration maximale de métal dissous peut être déterminée par la limite de solubilité du composé métallique ou au moyen d'un essai préliminaire de transformation/dissolution. La finalité de l'essai préliminaire, conduit avec une charge unique, est

l'identification des composés qui se dissolvent ou qui se transforment rapidement de façon à ce que leur potentiel d'écotoxicité ne peut être distingué de celui des formes solubles.

6. Les composés métalliques peu solubles sous la forme de la plus petite dimension particulière représentée sur le marché, sont introduits en milieu aqueux à une charge unique de 100 mg/l. La dissolution s'obtient par agitation de ce milieu durant 24 heures. À l'issue de cette période d'agitation, on mesure la concentration de l'ion métallique dissous.

B. Essai proprement dit de transformation/dissolution – composés métalliques peu solubles et métaux

7. L'essai proprement dit de transformation/dissolution vise à déterminer le degré de dissolution ou de transformation des métaux et des composés métalliques après une certaine période, à différentes charges de la phase aqueuse. Normalement, les formes massives et/ou pulvérisées sont introduites dans le milieu aqueux à trois charges différentes : 1, 10 et 100 mg/l. Une charge unique de 100 mg/l peut être appliquée si l'on estime que la dissolution ne prendra pas de proportions importantes. La transformation/dissolution s'effectue selon un procédé d'agitation normalisé qui n'abrase pas les particules. Le résultat de la transformation/dissolution à court terme est calculé en fonction de la concentration des ions métalliques dissous obtenue à l'issue d'une période de 7 jours. Le résultat de la transformation/dissolution à long terme est déterminé à l'aide d'un essai de 28 jours, conduit avec une charge unique de 1 mg/l.

8. Comme le pH a une influence sensible sur la transformation/dissolution, l'essai préliminaire et l'essai proprement dit doivent en principe être exécutés à un pH qui maximise la concentration des ions métalliques dissous. Compte tenu des conditions régnant généralement dans les milieux naturels, il faut appliquer une gamme de pH de 6-8,5, sauf pour l'essai proprement dit de 28 jours qui doit se dérouler dans une gamme de pH comprise entre 5,5 et 8,5 pour refléter les éventuels effets à long terme sur les lacs acides.

9. En outre, la superficie des particules de l'échantillon testé ayant une influence notable sur la vitesse et l'ampleur de la transformation/dissolution, les poudres sont testées à la plus petite dimension particulière représentée sur le marché, tandis que les échantillons massifs sont testés à une dimension particulière représentative des manipulations et utilisations normales. En l'absence de cette information, on utilisera un diamètre par défaut de 1 mm. S'agissant des métaux massifs, cette valeur par défaut ne pourra être dépassée que si ce dépassement est suffisamment justifiable. Il est nécessaire de déterminer la superficie spécifique afin de caractériser et comparer des échantillons semblables.

APPLICABILITÉ DE L'ESSAI

10. Cet essai s'applique à tous les composés métalliques minéraux peu solubles et tous les métaux. Les exceptions, telles que certains métaux réagissant avec l'eau, sont à justifier.

INFORMATIONS SUR LA SUBSTANCE D'ESSAI

11. Les substances telles qu'elles se trouvent sur le marché doivent être utilisées dans les essais de transformation/dissolution. Pour interpréter correctement les résultats de l'essai, il est nécessaire d'obtenir les informations suivantes sur la ou les substances d'essai :

- nom de la substance, formule et utilisation sur le marché ;
- procédé physico-chimique de préparation ;
- identification du lot testé ;
- caractéristiques chimiques : pureté globale (%) et impuretés individuelles (% ou ppm) ;
- densité (g/cm^3) ou gravité spécifique ;
- superficie spécifique mesurée (m^2/g) – mesurée par adsorption-désorption de N_2 selon le procédé BET (Brunauer, Emmett et Teller) ou une technique équivalente ;
- stockage, date d'expiration ;
- informations connues sur la solubilité et les produits de solubilité ;
- identification des dangers et précautions d'utilisation ;
- fiche de données de sécurité des matériaux ou renseignements équivalents.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE D'ESSAI

Matériel et réactifs

12. Les essais nécessitent le matériel et les réactifs suivants :

- Flacons de prélèvement en verre munis d'un dispositif de fermeture, prélavés et rincés à l'acide (paragraphe 13) ;
- milieu de transformation/dissolution (ISO 6341) (paragraphe 14) ;
- dispositif pour tamponner la solution d'essai (paragraphe 15) ;
- agitateurs : agitateur orbital, agitateur à pales verticales, agitateur de laboratoire ou appareil équivalent (paragraphe 16) ;
- filtres appropriés (par exemple Acrodisc à $0,2 \mu\text{m}$) ou centrifugeuse pour séparer les solides du liquide (paragraphe 18) ;
- dispositif de régulation de la température des récipients réactionnels à $\pm 2^\circ\text{C}$ près dans l'intervalle compris entre 20°C et 25°C , tel qu'une armoire thermostatée ou un bain-marie.
- seringues et/ou pipettes automatiques ;
- pH-mètre affichant des résultats acceptables à l'intérieur d'un intervalle de 0,2 unité de pH ;
- appareil permettant de mesurer l'oxygène dissous et affichant la température ;
- thermomètre ou thermocouple ; et
- matériel d'analyse des métaux (par exemple spectromètre d'adsorption atomique, spectromètre d'émission de plasma axial couplé par induction).

13. Tous les récipients expérimentaux en verre doivent être nettoyés soigneusement, selon les pratiques normalisées de laboratoire, rincés à l'acide (par exemple HCl) puis à l'eau désionisée. Le récipient expérimental (cuve de un à deux litres) doit pouvoir contenir un à deux litres de milieu aqueux sans que celui-ci déborde durant la période d'agitation spécifiée. Si le milieu est tamponné à l'air (essais menés à pH 8), il est conseillé d'augmenter la capacité de tamponnage à l'air du milieu par un accroissement du rapport espace de tête /liquide (par exemple 1 l de milieu dans un récipient de 2,8 l).

14. Il convient d'utiliser une eau reconstituée conforme à la norme ISO 6341¹, comme milieu standard

¹ Aux fins de la classification des dangers, les résultats obtenus en suivant le protocole de dissolution/transformation sont comparés aux données d'écotoxicité existantes pour les métaux et les composés métalliques. Toutefois, s'il s'agit notamment de valider des données, il pourra être indiqué dans certains cas d'utiliser le milieu aqueux final d'un essai de

transformation/dissolution. Le milieu doit être stérilisé par filtration (0,2 µm) avant d'être employé dans les essais. La composition chimique du milieu de transformation/dissolution normalisé (pour les essais conduits à pH 8) est la suivante :

NaHCO₃ : 65.7 mg/L
 KCl : 5.75 mg/L
 CaCl₂.2H₂O : 294 mg/L
 MgSO₄.7H₂O : 123 mg/L

Le paragraphe 18 donne des compositions chimiques adaptées aux essais effectués à des valeurs de pH inférieures.

15. La concentration du carbone organique total dans le milieu ne doit pas dépasser 2,0 mg/l.

16. L'utilisation d'un milieu marin normalisé, en plus du milieu d'eau douce, pourra aussi être envisagée si la solubilité ou la transformation du composé métallique risquent d'être sensiblement affectées par la haute teneur en chlorures ou par d'autres caractéristiques chimiques propres à l'eau de mer et si l'on dispose de données expérimentales sur la toxicité à l'égard des espèces marines. Le cas échéant, la composition chimique du milieu marin normalisé sera la suivante :

NaF:	3mg/l
SrCl ₂ .6H ₂ O:	20mg/l
H ₃ BO ₃ :	30mg/l
KBr:	100mg/l
KCl:	700mg/l
CaCl ₂ .2H ₂ O:	1,47g/l
Na ₂ SO ₄ :	4,0g/l
MgCl ₂ .6H ₂ O:	10,78g/l
NaCl:	23,5g/l
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O:	20mg/l
NaHCO ₃ :	200mg/l

La salinité doit atteindre 34 ± 0,5 g/kg et le pH doit être de 8,0 ± 0,2. L'eau de mer reconstituée doit aussi être débarrassée de toute trace de métaux (ASTM E 729-96).

17. Les essais de transformation/dissolution doivent être exécutés à un pH qui maximise la concentration des ions métalliques dissous, dans l'intervalle de pH prescrit. On appliquera une gamme de pH de 6 à 8,5 à l'essai préliminaire et à l'essai proprement dit de sept jours, et une gamme de 5,5 à 8,5 à l'essai proprement dit de 28 jours (paragraphe 8).

18. Le milieu peut être tamponné à pH 8 grâce à un équilibre avec l'air, dans lequel la concentration de CO₂ exerce un pouvoir tampon suffisant pour maintenir le pH à une valeur comprise dans un intervalle de ± 0,2 unités sur une période d'une semaine (référence 7). L'augmentation du rapport espace libre/liquide permet d'améliorer la capacité de tamponnage à l'air du milieu.

19. Les compositions chimiques recommandées pour ajuster le milieu à pH 7 et 6 sont reproduites au tableau 1, ainsi que les concentrations de CO₂ à appliquer dans l'air à insuffler à travers l'espace libre et les valeurs de pH calculées dans ces conditions.

transformation (mené à son terme) directement dans un essai d'écotoxicité de l'OCDE sur les daphines ou sur les poissons (Ligne directrice 202 ou 203). Si les concentrations de CaCl₂.2H₂O et MgSO₄.7H₂O du milieu de transformation sont réduites à un cinquième de celles du milieu ISO 6341, le milieu final de l'essai de transformation peut aussi être utilisé (après l'ajout de micronutriments) dans l'essai d'écotoxicité sur les algues de l'OCDE (Ligne directrice 201).

TABLEAU 1

Composition chimique du milieu	NaHCO ₃	6,5 mg/l	12,6 mg/l
	KCl	0,58 mg/l	2,32 mg/l
	CaCl ₂ .2H ₂ O	29,4 mg/l	117,6 mg/l
	MgSO ₄ .7H ₂ O	12,3 mg/l	49,2 mg/l
Concentration de CO ₂ (concentration lorsque le milieu est en l'équilibre avec l'air) dans le récipient expérimental		0,50%	0,10%
pH calculé		6,09	7,07

Note : les valeurs de pH ont été calculées à l'aide du système FACT (Facility for the Analysis of Chemical Thermodynamics), un outil d'analyse en thermodynamique chimique (<http://www.crct.polymtl.ca/fact/fact.htm>).

20. D'autres méthodes de tamponnage équivalentes peuvent être appliquées à condition que l'influence du tampon choisi sur la vitesse de transformation et de spéciation chimique de la fraction métallique dissoute soit minimale.

21. Durant les essais de transformation/dissolution proprement dits, l'agitation du milieu devra être suffisante pour maintenir l'écoulement du milieu aqueux au-dessus de la substance et préserver l'intégrité de la surface de la substance d'essai et de tous les produits de réaction solides susceptibles de se former à la surface de la substance d'essai. Pour ce faire, on aura recours au matériel suivant (pour un litre de milieu aqueux) :

- une agitateur à pales verticales tournant à 200 tours par minute, dont les pales sont disposées à 5 cm du fond d'une cuve expérimentale d'1 l. Les agitateur à pales verticales radial se composent de deux pales en polypropylène de 40 mm de large sur 15 mm de haut calées sur un axe en acier recouvert de PVC de 8 mm de diamètre et de 350 mm de long ; ou
- un flacon de 1,0 à 3,0 l fermé par un bouchon en caoutchouc et placé sur un agitateur orbital ou un agitateur de laboratoire réglé sur 100 tours par minute.

22. D'autres méthodes d'agitation douce peuvent être utilisées à condition qu'elles respectent les critères concernant l'intégrité de la surface et l'homogénéité de la solution.

23. Avant de choisir la méthode de séparation solides-liquide, il faut vérifier si les ions métalliques solubles s'adsorbent sur les filtres et si la méthode d'agitation prescrite au paragraphe 16 engendre une suspension, ce qui dépendra de la distribution des dimensions particulières et de la densité des particules. Dans le cas des solides dont la densité dépasse environ 6 g/cm³, et dont la dimension des particules est assez faible (50 pour cent < 8 µm), l'expérience a montré qu'il est peu probable que les méthodes d'agitation douce exposées au paragraphe 16 engendrent des suspensions. Si bien que la filtration d'un échantillon à travers une membrane en polyéthersulfone hydrophile (de 25 mm de diamètre et 0,2 µm) montée sur une seringue, et éventuellement recouverte d'un préfiltre de 0,8 µm, par exemple, produira une solution pratiquement dépourvue de solides. Néanmoins, si une suspension se formait, on pourrait interrompre l'agitation durant environ 5 minutes, le temps que la suspension se redépose, avant de prélever un échantillon de solution.

Conditions préalables

Méthode d'analyse

24. Il est capital pour l'étude que l'analyse des métaux dissous totaux repose sur une méthode appropriée et validée. La limite de détection analytique doit être inférieure à la valeur pertinente obtenue au cours des essais d'écotoxicité chronique ou à long terme.

25. Il faudra au moins mentionner les aspects suivants en ce qui concerne la validation de la méthode d'analyse :

- limite de détection et de quantification de la méthode d'analyse ;
- intervalle de linéarité analytique dans l'intervalle analytique applicable ;
- un essai à blanc sur le seul milieu de transformation (ceci peut être fait durant les essais) ;
- l'effet matriciel du milieu de transformation sur la mesure de l'ion métallique dissous ;
- le bilan massique (%) à la fin de l'essai de transformation ;
- la reproductibilité de l'analyse ;
- l'adsorption des ions métalliques solubles sur les filtres (si la filtration est utilisée pour séparer les ions métalliques solubles du métal solide).

Détermination du pH approprié au milieu de dissolution

26. Si les publications ne livrent pas d'information à ce sujet, il faudra peut-être conduire un essai préliminaire, afin de s'assurer que l'essai est pratiqué à un pH qui maximise la transformation/dissolution dans la gamme de pH indiquée aux paragraphes 8 et 16.

Reproductibilité des résultats de la transformation

27. Pour un montage courant comprenant trois exemplaires du même récipient expérimental et un prélèvement de deux échantillons par récipient à chaque heure de prélèvement, il est raisonnable de prévoir qu'avec un charge constante de la substance, testée dans une gamme étroite de dimension particulière (par exemple 37-44 µm) et de superficie totale, la variation des résultats de la transformation devra être inférieure à 10 pour cent dans un même récipient et inférieure à 20 pour cent entre les récipients [référence 5].

28. Les passages qui suivent orientent la marche à suivre pour estimer la reproductibilité de l'essai de transformation. Grâce aux résultats, on pourra améliorer la reproductibilité en ajustant le montage expérimental final, et ce en faisant varier le nombre de récipients expérimentaux identiques et/ou le nombre d'échantillons prélevés par paire ou en triant davantage les particules. Les essais préliminaires permettent aussi de pratiquer une première évaluation de la vitesse de transformation de la substance d'essai et peuvent servir à établir la fréquence des prélèvements.

29. En préparant le milieu de transformation/dissolution, on ajustera le pH du milieu à la valeur désirée (tamponnage à l'air ou au CO₂) en l'agitant durant environ une demi heure, afin d'amener le milieu aqueux à l'équilibre avec l'atmosphère tampon. On prélève au moins trois échantillons (par exemple 10 – 15 ml) du milieu d'essai avant d'ajouter la substance et on relève les concentrations de métal dissous qui sont considérées comme des concentrations témoins ou de fond.

30. Au moins cinq récipients expérimentaux, contenant le métal ou le composé métallique (par exemple 100 mg de solide/l de milieu) sont agités conformément aux instructions du paragraphe 16, à une température ne variant pas de ± 2°C dans la gamme 20 – 25°C, et trois échantillons sont prélevés à la seringue dans chaque récipient expérimental après 24 heures. Le solide et la solution sont séparés par un filtre à membrane conformément à ce qui est décrit au paragraphe 18, la solution est acidifiée avec 1 pour cent de HNO₃ et analysée. L'analyse sert à déterminer la concentration totale des métaux dissous.

31. On calcule les moyennes et les coefficients de variation des concentrations mesurées de métaux dissous à l'intérieur d'un même récipient et entre les récipients.

Conduite de l'essai

a. Essai préliminaire de dissolution – composés métalliques peu solubles

32. Après avoir préparé le milieu de dissolution, l'expérimentateur le verse dans au moins trois récipients (le nombre dépend de la reproductibilité obtenue au cours de l'essai préliminaire). Il agite le milieu aqueux durant une demi heure afin de l'amener à l'équilibre avec l'atmosphère ou le système tampon (paragraphe 15) et mesure le pH, la température et la concentration d'O₂ dissous dans le milieu. Ensuite, il prélève au moins deux échantillons (10 – 15 ml) du milieu d'essai (avant l'addition des solides) et mesure la concentration du métal dissous, laquelle correspond à la concentration témoin ou de fond.

33. Le composé métallique est introduit dans les récipients à une charge de 100 mg/l, ensuite les récipients sont couverts et agités rapidement et vigoureusement. Après 24 heures d'agitation, on mesure le pH, la température et la concentration de O₂ dissous dans chaque récipient, on prélève deux à trois échantillons de solution de chaque récipient au moyen d'une seringue et on fait passer la solution à travers un filtre à membrane, conformément aux instructions du paragraphe 18. La solution est ensuite acidifiée (par exemple avec 1 pour cent de HNO₃) et subit une analyse destinée à déterminer la concentration totale des métaux dissous.

b. Essai proprement dit – métaux et composés métalliques

34. Répéter la procédure exposée au paragraphe 32.

35. Pour l'essai de sept jours, la substance est introduite à des charges respectives de 1, 10, 100 mg/l dans les récipients expérimentaux (dont le nombre dépend de la reproductibilité, laquelle aura été établie conformément aux paragraphes 27 à 31) contenant le milieu aqueux. Les récipients expérimentaux sont fermés et agités selon les instructions du paragraphe 16. Si un essai de 28 jours est requis, l'essai conduit avec une charge de 1 mg/l peut être prolongé jusqu'à 28 jours, à condition qu'il soit pratiqué à la même valeur de pH que l'essai de 7 jours. Toutefois, comme les essais de 7 jours ne sont conduits qu'à des valeurs de pH de 6 ou supérieures, il est nécessaire de mener d'autres essais de 28 jours pour couvrir la gamme de pH comprise entre 5,5 et 6. Il peut aussi être utile d'inclure un témoin en parallèle ne renfermant pas la substance (solution d'essai seule). À l'issue d'intervalles de temps déterminés (par exemple 2 heures, 6 heures, 1, 4 et 7 jours), on mesure la température, le pH et la concentration de O₂ dissous dans chaque récipient expérimental et l'on prélève au moins deux échantillons (par exemple 10 – 15 ml) à la seringue dans chaque récipient. Il faut ensuite séparer les fractions solides et dissoutes, conformément aux instructions du paragraphe 18, acidifier les solutions (par exemple avec 1 pour cent de HNO₃) et les analyser pour mesurer la concentration de métal dissous. Après une première période de 24 heures, on ramènera le volume des solutions à leur valeur initiale en ajoutant un volume de milieu de dissolution neuf équivalent à celui ayant déjà été prélevé. Cette procédure est à répéter lors des prélèvements suivants. Le volume (total) maximal prélevé des solutions expérimentales ne doit pas dépasser 20 pour cent du volume initial de la solution d'essai. Il peut être mis un terme à l'essai lorsque l'on obtient successivement trois valeurs de la concentration totale du métal dissous ne variant pas de plus de 15 pour cent. La durée maximale d'essai aux charges de 10 et 100 mg/l de milieu d'essai est de sept jours (essai à court terme) et celle de la charge de 1 mg/l (essai à long terme) est de 28 jours.

Conditions expérimentales

36. Les essais de transformation/dissolution doivent s'effectuer à température constante ($\pm 2^\circ\text{C}$) dans l'intervalle de 20 – 25°C.

37. Les essais de transformation/dissolution sont conduits dans la gamme de pH indiquée aux paragraphes 8 et 16. Le pH de la solution d'essai doit être noté à chaque moment de prélèvement. Le pH devrait demeurer constant ($\pm 0,2$ unités) durant la plupart des essais, toutefois, certaines variations de pH à court terme ont été observées avec des poudres fines réactives [7] chargées à 100 mg/l, variations qui résultent des propriétés inhérentes de la substance à l'état finement divisé.

38. L'espace de tête dans le récipient expérimental au-dessus du milieu aqueux devrait permettre, dans la plupart des cas, de maintenir la concentration d'oxygène dissous au-dessus de 70 pour cent de sa concentration de saturation dans l'air, laquelle avoisine les 8,5 mg/l. Cependant, dans certains cas, la cinétique réactionnelle risque d'être limitée, non pas par la disponibilité de l'oxygène moléculaire dans l'espace libre au-dessus de la solution, mais par le transfert d'oxygène dissous vers l'interface solide-solution et l'enlèvement du produit réactionnel de cette interface. Dans ce cas, la seule chose à faire est d'attendre le rétablissement de l'équilibre.

39. Afin de réduire la contamination chimique et biologique ainsi que l'évaporation, on fera en sorte que la cinétique de transformation/dissolution se déroule dans des récipients fermés et dans l'obscurité, chaque fois que cela est possible.

TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Essai préliminaire

40. Les concentrations moyennes de métal dissous sont calculés après 24 heures (avec des intervalles de confiance).

Essai proprement dit

Détermination de l'ampleur de la transformation/dissolution

41. Il faut tracer la courbe des concentrations de métal dissous, mesurées au cours des essais à court terme (7 jours), en fonction du temps et déterminer, si possible, la cinétique de transformation/dissolution. Les modèles cinétiques suivants pourraient être utilisés pour décrire les courbes de transformation/dissolution :

(1) Modèle linéaire :

$$C_t = C_0 + kt, \text{ mg/l}$$

Où :

C_0 = concentration totale initiale de métal dissous (mg/l) au moment $t = 0$;

C_t = concentration totale de métal dissous (mg/l) au temps t ;

k = constante de vitesse linéaire, mg/l/jours

(2) Modèle de premier ordre :

$$C_t = A (1 - e^{-kt}), \text{ mg/l}$$

où :

A = concentration limitante de métal dissous (mg/l) à l'équilibre apparent = constante ;

C_t = concentration totale de métal dissous (mg/l) au temps t ;

k = constante de vitesse de premier ordre, 1/jours.

(3) Modèle de deuxième ordre :

$$C_t = A (1 - e^{-at}) + B (1 - e^{-bt}), \text{ mg/l}$$

où :

C_t = concentration totale de métal dissous (mg/l) au temps t ;

a = constante de vitesse de premier ordre, 1/jours ;

b = constante de vitesse de deuxième ordre, 1/jours ;

C = A + B = concentration limitante de métal dissous (mg/l).

(4) Équation de la cinétique réactionnelle :

$$C_t = a [1 - e^{-bt} - (c/n) \{1 + (be^{-nt} - ne^{-bt})/(n - b)\}], \text{ mg/l}$$

où :

C_t = concentration totale de métal dissous (mg/l) au temps t ;

a = coefficient de régression (mg/l) ;

b,c,d = coefficients de régression (1/jours) ;

n = c + d.

D'autres équations de cinétique réactionnelle peuvent aussi convenir [7,8].

42. Pour chaque réplikat de récipient expérimental utilisé dans l'essai de transformation, les paramètres de ces modèles doivent être estimés par des analyses de régression. Cette procédure évite d'éventuels problèmes de corrélation entre des mesures successives du même réplikat. Les valeurs moyennes des coefficients peuvent être comparées à l'aide d'une analyse classique de la variance, si l'essai a compté au moins trois récipients expérimentaux. L'estimation du coefficient de détermination, r^2 , permet de mesurer la « qualité d'ajustement ».

43. Les concentrations de métal dissous, mesurées avec une charge de 1 mg/l durant l'essai de 28 jours sont portées sur un graphique en fonction du temps ; l'on détermine ensuite la cinétique de transformation/dissolution, si possible, conformément à ce qui est décrit aux paragraphes 40 et 41.

RAPPORT D'ESSAI

44. Le rapport d'essai doit au moins inclure les informations suivantes, voir aussi les paragraphes 11 et 24 :

- identification du commanditaire et du laboratoire qui a conduit les essais ;
- description de la substance d'essai ;
- description du milieu d'essai reconstitué et des charges de métal ;
- système de tamponnage du milieu utilisé et validation du pH utilisé (comme indiqué au paragraphe

- 21) et description de la méthode d'analyse ;
- description détaillée de la procédure et du montage expérimental ;
- préparation de la solution métallique normalisée;
- résultats de la méthode de validation ;
- résultats des analyses des concentrations de métaux, du pH, de la température et de la concentration d'oxygène ;
- dates des essais et des analyses pratiqués aux différents intervalles de temps ;
- concentrations moyennes de métal dissous à la fin de chaque intervalle de temps (avec intervalles de confiance) ;
- courbes de transformation (concentration totale de métal dissous en fonction du temps) ;
- résultats de la cinétique de transformation/dissolution, le cas échéant ;
- estimation de l'équation de la cinétique réactionnelle, le cas échéant ;
- justification des éventuels écarts par rapport au plan de l'étude ;
- description de toutes les circonstances qui auraient affecté les résultats ; et
- référence aux données antérieures et aux données brutes.

RÉFÉRENCES

1. "Draft Report of the OECD Workshop on Aquatic Toxicity Testing of Sparingly Soluble Metals, Inorganic Metal Compounds and Minerals", Sept. 5-8, 1995, Ottawa.
2. OCDE, réunion du Groupe de travail sur les métaux, Paris, 18-19 juin 1996.
3. Bureau européen des substances chimiques. Meeting on Testing Methods for Metals and Metal Compounds, Ispra, February 17-18, 1997.
4. OCDE, réunion du Groupe de travail sur les métaux, Paris, 14-15 octobre 1997.
5. LISEC² Staff, "Final report "transformation/dissolution of metals and sparingly soluble metal compounds in aqueous media - zinc", LISEC no. BO-015 (1997).
6. J.M. Skeaff³ and D. Paktunc, "Development of a Protocol for Measuring the Rate and Extent of Transformations of Metals and Sparingly Soluble Metal Compounds in Aqueous Media. Phase I, Task 1: Study of Agitation Method." Final Report, January 1997. Mining and Mineral Sciences Laboratories Division Report 97-004(CR)/Contract No. 51545.
7. Jim Skeaff and Pierrette King, "Development of a Protocol For Measuring the Rate and Extent of Transformations of Metals and Sparingly Soluble Metal Compounds in Aqueous Media. Phase I, Tasks 3 and 4: Study of pH and of Particle Size/Surface Area.", Final Report, December 1997. Mining and Mineral Sciences Laboratories Division Report 97-071(CR)/Contract No. 51590.
8. Jim Skeaff and Pierrette King, Development of Data on the Reaction Kinetics of Nickel Metal and Nickel Oxide in Aqueous Media for Hazard Identification, Final Report, January 1998. Mining and Mineral Sciences Laboratories Division Report 97-089(CR)/Contract No. 51605.
9. LISEC Staff, "Final report "transformation/dissolution of metals and sparingly soluble metal compounds in aqueous media - zinc oxide", LISEC no. BO-016 (January, 1997).
10. LISEC Staff, "Final report "transformation/dissolution of metals and sparingly soluble metal compounds in aqueous media - cadmium", LISEC no. WE-14-002 (January, 1998).
11. LISEC Staff, "Final report "transformation/dissolution of metals and sparingly soluble metal compounds in aqueous media - cadmium oxide", LISEC no. WE-14-002 (January, 1998).

BIBLIOGRAPHIE

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Paris (1984). Ligne directrice 201 :Algues, essai d'inhibition de la croissance.

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Paris (1984). Ligne directrice 202 :Daphnia sp. Essai d'immobilisation immédiate et essai de reproduction.

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Paris (1992). Ligne directrice 203 : Poisson, essai de toxicité aiguë.

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Paris (1992). Ligne directrice 204 : Poisson, essai de toxicité prolongée: étude de 14 jours.

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Paris (1992). Ligne directrice 210 : Poisson, essai de toxicité aux premiers stades de la vie.

Norme internationale ISO 6341 (1989 (E)). Qualité de l'eau - Détermination de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) – Essai de toxicité aiguë.

² LISEC, Craenevenne 140, 3600 Genk, Belgique

³ CANMET, Ressources naturelles Canada, 555 Booth St., Ottawa, Canada K1A 0G1