



23183



Agence de l'eau  
Rhin-Meuse

environnement

**IRH Environnement**

**Direction de la Recherche**

Service Microbiologie et Ecotoxicologie

Michel **JAUZEIN**, Marie José **JOURDAIN** et Antonio **BISPO**

11 bis Rue Gabriel PERI

545 15 Vandoeuvre les Nancy

Tel : 03.83.50.36.51

Fax : 03.83.50.36.99



**ENSALA-INRA**

Laboratoire Sols et Environnement

Jean Louis **MOREL** et Cécile **PAYET**

2, Avenue de la forêt de Haye

54505 Vandoeuvre les Nancy

Tel : 03.83.59.58.65

Fax : 03.83.59.57.92

## AGENCE DE L'EAU RHIN-MEUSE

### IDENTIFICATION DES SOURCES DE TOXICITE DANS LES BOUES INDUSTRIELLES

### *Rapport final*

**Numéro du marché : 97 MA S072**

**Date du marché : 21 janvier 1998**

**Durée du marché : 8 mois**



## Résumé

Les fonctions exercées par les plantes dans les écosystèmes terrestres (cycles biogéochimiques, nutrition, maintien des fonctions du sol.. .) rendent indispensables l'évaluation de l'impact des boues sur ces espèces. Les points traités dans cette étude comprennent la détermination de la phytotoxicité des boues industrielles et le développement d'une procédure permettant d'identifier les sources de toxicité.

Un inventaire des tests de phytotoxicité disponibles et une analyse critique d'une campagne d'essais de tests de phytotoxicité ont été tout d'abord effectués. La synthèse documentaire a permis de souligner la nécessité d'utiliser obligatoirement un essai préliminaire (pour caler les essais définitifs) et de noter scrupuleusement l'évolution de la structure des boues durant les essais. Cinq boues issues de sites industriels présentant des activités différentes (papeterie, teinturerie, agroalimentaire, chimie et station d'épuration urbaine) ont été échantillonnées et caractérisées par rapport aux paramètres définis dans l'arrêté du 8 Janvier 1998 (JO du 31/01/98). Les analyses chimiques réalisées ne mettent pas en évidence de dépassement de seuil par rapport à l'arrêté. Les différents essais de phytotoxicité (inhibition de croissance sur orge, cresson et laitue) ont mis en évidence l'existence d'une réponse toxique (d'intensité variable suivant la plante utilisée) pour l'ensemble des boues prélevées. Cependant, l'origine de la toxicité est difficile à établir compte tenu de la modification de l'état physique (relargage d'eau liée, apparition d' $H_2S$ .. .) ou biologique (développement de champignons) de la boue au cours de l'essai, influençant la germination et la croissance des plantes testées.

Ces essais ont permis d'évaluer la phytotoxicité des boues mais sans une identification des sources de leur toxicité. Un protocole de caractérisation phytotoxique a été proposé comportant sur les étapes suivantes : congélation-décongélation-centrifugation des boues pour uniformiser l'état hydrique des boues avant le démarrage des essais de phytotoxicité ; suivis par une succession de lixiviations à l'eau et l'aide de solvants pour séparer les polluants solubles et les polluants insolubles ; une dernière série d'extractions sélectionne les polluants organiques solubles et les polluants métalliques. Sur les différents extraits obtenus, des essais d'inhibition de croissance racinaire sur laitue sont réalisés. L'origine de la toxicité des boues testées est due principalement pour :

- la boue de papeterie à la présence de polluants organiques, peu ou non solubles (identifiés dans les extraits organiques),
- la boue agroalimentaire à la présence de polluants organiques solubles et d'éléments minéraux (identifiés dans les extraits aqueux),
- les boues du textile et de la chimie à la présence de polluants minéraux (identifiés dans les extraits aqueux),
- la boue de station d'épuration urbaine à la présence de polluants organiques solubles (identifiés dans les extraits aqueux)

Cette technique de fractionnement, en la reliant à la connaissance du processus de production et d'épuration (techniques et entrants) permet d'une part, de caractériser et d'identifier les fractions toxiques ainsi que les polluants responsables de cette toxicité et, d'autre part, de définir des actions correctives, en amont, au cours de la production ou du traitement.

## SOMMAIRE

<b>OBJET DU RAPPORT</b>	<b>9</b>
<b>PHASE 1</b>	<b>10</b>
<b>1. Intérêts des tests de phytotoxicité</b>	<b>11</b>
1.1. Rôle des végétaux dans les écosystèmes terrestres	11
1.2. Intérêt des tests biologiques de phytotoxicité sur des boues pouvant être épandues	11
<b>2. Les tests de phytotoxicité</b>	<b>12</b>
2.1. Principe des tests de phytotoxicité	12
2.2. Normalisation des tests de phytotoxicité	13
2.2.1. Les conditions de croissance	13
2.2.2. Les voies d'exposition	13
2.2.3. La matrice de référence	15
2.2.4. Les paramètres de mesure et les espèces employées	17
2.2.5. Sensibilité des espèces aux polluants organiques et métalliques	18
2.2.5.1. Phytotoxicité des composés inorganiques	19
2.2.5.2. Phytotoxicité des composés organiques phénoliques	19
2.2.5.3. Phytotoxicité des composés organiques non phénoliques	20
2.2.5.4. Phytotoxicité d'un mélange d'hydrocarbures	20
2.2.5.5. Phytotoxicité de boues de station d'épuration	21
2.2.5.6. Conclusion	22
2.3. Limites des tests normalisés	22
2.4. Conclusions	23
<b>3. Le protocole utilisé lors de l'étude de la phytotoxicité des boues de station d'épuration, campagne sur 37 boues (1996)</b>	<b>24</b>
3.1. Rappel du protocole de test	24
3.2. Nombre d'individus testés	24
3.3. Effet du pH	25
3.4. Gamme de concentration de l'essai	26
3.5. Effet du stockage des boues	26
3.6. Calcul des descripteurs de toxicité (CI <sub>50</sub> , CSEO et CMEO)	26
3.7. Conclusions	27
<b>4. Résultats des analyses chimiques et écotoxiques réalisées sur les 5 boues</b>	<b>27</b>
4.1. Protocoles de caractérisation	27
4.1.1. Prélèvement	27
4.1.2. Analyses physico-chimiques	28
4.1.2.1. Analyses des éléments traces métalliques	28
4.1.2.2. Analyses des <b>micropolluants</b> organiques	28
4.1.3. Analyse de la phytotoxicité	29
4.2. Résultats	29
4.2.1. Résultats des analyses	29
4.2.2. Résultats des essais de phytotoxicité	31
4.2.2.1. Essais <b>préliminaires</b>	31
4.2.2.2. Essais définitifs	32
<b>5. Comparaison avec les résultats de la précédente campagne</b>	<b>35</b>
<b>6. Recommandations et propositions</b>	<b>35</b>
6.1. Recommandations	35
6.2. Propositions : uniformisation de la structure des boues avant les essais de <b>phytotoxicité</b>	36

	5
<b>PHASE 2</b>	<b>36</b>
<b>1. Intérêt du fractionnement des boues</b>	<b>39</b>
1.1. Méthodes de <b>fractionnement</b>	<b>39</b>
1.1.1. Données bibliographiques	<b>39</b>
1.1.2. Fractionnement des polluants dissous dans le lixiviat	<b>39</b>
1.1.3. Fractionnement de polluants dissous dans un extrait organique de la boue	41
1.1.4. Limites de ces méthodes	41
<b>2. Protocole de fractionnement proposé</b>	<b>41</b>
2.1. Tests biologiques et blancs	45
2.1.1. Définition des blancs	45
2.1.2. Réalisation des essais biologiques	45
<b>PHASE 3</b>	<b>47</b>
<b>1. Prélèvement et préparation des boues</b>	48
<b>2. Obtention et variabilité des différents extraits</b>	<b>49</b>
2.1. Extraits A et B	49
2.2. Extraits C, D et E	51
<b>3. Résultats obtenus</b>	52
3.1. Essai de germination sur les sumageants obtenus après prétraitement (congélation-centrifugation) des boues	53
3.2. Résultats des essais d'inhibition de croissance racinaire sur les boues prétraitées	54
3.3. Résultats des essais d'inhibition de croissance <b>racinaire</b> sur les différents extraits obtenus par le <b>fractionnement</b>	54
<b>4. Etape de confirmation</b>	58
<b>5. Comparaison des essais de toxicité avec les résultats chimiques des différents extraits</b>	<b>61</b>
<b>6. Conclusion et améliorations proposées</b>	62
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>64</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>69</b>

## Objet du rapport

Ce rapport constitue la synthèse des travaux concernant le marché 97 MA S072 notifié le 21 janvier 1998 entre l'Agence de l'Eau Rhin Meuse et l'IRH Environnement et son co-traitant l'ENSAIA-INRA Laboratoire Sols et Environnement, ayant pour objet " L'étude sur l'identification des sources de toxicité dans les boues industrielles ".

L'étude porte sur l'intérêt des tests de phytotoxicité dans les boues résiduelles et sur une méthode d'identification des origines de la toxicité.

Cette étude est subdivisée en trois phases.

- **La phase 1** est une analyse de l'applicabilité des essais de phytotoxicité aux boues, elle comprend les points suivants :

1. Une analyse critique de l'emploi de tests de phytotoxicité sur des boues résiduelles à partir de consultations bibliographiques et des comptes-rendus **opératoires** d'une campagne de mesures menée en 1996, dans le bassin Rhin-Meuse sur 37 boues d'épuration industrielles comportant des analyses en micropolluants et des tests de phytotoxicité (ISO/CD 11269-2 sur orge [*Hordeum vulgare*] et cresson [*Lepidium sativum*]).
2. La réalisation de prélèvements sur cinq boues choisies par l'Agence de l'Eau Rhin Meuse (parmi les 37 boues de la campagne de 1996) a permis de réaliser des analyses chimiques (**éléments** traces minéraux et micropolluants organiques - HAP et PCB) et des essais de phytotoxicité (tests de germination et croissance sur orge et cresson [ISO/CD 11269-2] d'une part, et tests d'élongation racinaire de la laitue [NF X 3 1-2031, d'autre part).
3. Des recommandations ont été formulées pour la réalisation des tests de phytotoxicité.

- **La phase 2** a pour but de définir un protocole d'identification des sources de toxicité.

- **La phase 3** consiste à tester l'applicabilité du protocole décrit dans la phase 2 aux 5 boues industrielles analysées dans la phase 1.