

INSTITUT DE RECHERCHES
EN HYDROLOGIE
POUR LA SANTE PUBLIQUE

9, AVENUE DE LA FORÊT DE HAYE

54505 VANDOEUVRE LES NANCY

AGENCE DE BASSIN RHIN-MEUSE

ETUDE

REJETS A RISQUE "TOXIQUE ELEVE" AU NIVEAU DU BASSIN RHIN - MEUSE

CONCLUSIONS ET COMMENTAIRES

PARTIE N° 6

Cette étude a permis de mettre en application des techniques analytiques variées et complémentaires pour rechercher des micropolluants minéraux, organiques et apprécier leur toxicité au niveau :

- d'effluents industriels
- d'eaux de rivière
- d'effluents de stations urbaines

Les techniques utilisées :

- Absorption Atomique
- Chromatographie Phase Liquide
- Chromatographie Phase Gazeuse
- Doseur de C O T
- Test de toxicité et microtox

ont permis d'obtenir de très nombreux résultats qui figurent dans les tableaux communiqués dans le rapport ci-joint.

Il nous apparait nécessaire et utile de tirer quelques conclusions autant philosophiques que techniques après ces quatre mois d'étude.

1° METAUX

La recherche et le dosage des métaux, fort bien maîtrisés dans nos deux Laboratoires depuis de longues années n'a pas apporté semble t-il de surprise particulière :

- d'un point de vue réalisation pratique
- d'un point de vue résultats obtenus

Les méthodes étant suffisamment rodées et spécifiques.

2°) PARAMETRES GLOBAUX

. C.O.T.

La détermination de ce test global nous apparait intéressante à plusieurs titres :

- elle est relativement facile et rapide
- elle permet une bonne orientation pour les analyses plus fines telles que la H.P.L.C. et la C.P.G.
- elle traduit bien la charge polluante organique d'un échantillon.

.../...

2.

. VOX AOX

Nous n'avons pas été maître de ces analyses puisqu'elles ont été sous traitées à ANJOU RECHERCHE.

Il apparait cependant :

- que des difficultés analytiques sont survenues sur certains échantillons
- que cette technique devrait être également un bon indice de guide pour la C P G - E C D.

Le jugement pourra être affiné lorsque l'AGENCE et nous-même à NANCY disposerons de cette technique.

. Cholinesterase

Ces déterminations ont été également sous traitées (ECOLE des Mines de ST ETIENNE); il apparait nécessaire de rencontrer Monsieur TRAN MINH pour porter un jugement de valeur.

Notre première impression serait plutôt réservée.

. Tests de toxicité

Dans l'ensemble nous avons remarqué une assez bonne corrélation dans le cas des échantillons globalement peu chargés.

En cas de charge plus importante :

- subsiste une certaine corrélation pour certains échantillons
- les deux tests sont plus divergents, chacun semble plus spécifique

En annexe, le rapport de Mr le Pr Paul VASSEUR.

3°) LA CHROMATOGRAPHIE

Comme il en avait été convenu et au vu de la liste des produits à rechercher, il était nécessaire de mettre en oeuvre le maximum d'outils chromatographiques :

.../...

* Au point de vue principe :

Chromatographie en phase gazeuse, en phase liquide

* Au point de vue extraction :

liquide - liquide ; dégazage par bullage, dégazage par équilibre liquide - gaz.

* Au point de vue détection :

F I D, E C D, T S D, I T D

Au terme de ce travail peuvent être posées certaines questions:

- Fallait-il utiliser toutes ces techniques ?
- Toutes ont-elles apporté des renseignements ou résultats interprétables et en accord avec l'activité de l'industriel?
- A-t-on manqué d'indications et de renseignements sur le "contexte polluant" ?
- Si cette étude était à refaire, serait-elle à refaire de manière identique ?
- Peut-on faire mieux dans l'avenir ?

Cette étude faite sur des eaux très différentes d'un point de vue origine et charges polluantes était bien nécessaire pour :

- tester un outil analytique aussi complet
- en voir ses limites
- en utiliser toute la puissance pour identifier le maximum de composés
- savoir orienter et adapter de futures analyses pour apprécier au mieux la qualité d'un rejet

Toute chromatographie, de par son principe même, est une technique de séparation qui nécessite une extraction préalable.

1. Toute extraction ne peut extraire que les produits extractibles et il ne faut pas être surpris que dans certains cas la charge organique totale puisse ne pas être confirmée par la chromatographie, d'où la nécessité d'avoir un jugement

plus global avec le C O T par exemple.

2. La réponse des détecteurs même spécifique est basée sur des temps de rétention obtenus eux-mêmes avec les étalons.

La connaissance du contexte polluant nous apparait plus nécessaire que jamais afin d'orienter le choix de ces étalons et de mieux interpréter, sinon d'identifier les pics obtenus.

Ceux-ci peuvent rester en effet dans l'inconnu si l'analyste n'en sait pas davantage sur le type de produits qu'il recherche.

3. Si la liste des produits à rechercher aurait pu effrayer plus d'un chimiste, on s'aperçoit en fait que le domaine à balayer était considérablement plus étendu et sans commune mesure avec la liste des toxiques C.E.E.

D'où la nécessité dans de telles études :

- d'être prudent vis à vis de toute chromatographie classique
- de recourir à des identifications complémentaires par spectrométrie de masse
- de raisonner dans certains cas sur des catégories de produits
- d'affiner de nouvelles investigations en tenant compte des résultats obtenus et en essayant de mieux connaître la nature de la pollution.

Ce vécu nous autorise à formuler les souhaits suivants et à faire un certain nombre de propositions :

1. AU niveau du prélèvement il serait judicieux :

- de pouvoir concentrer un plus grand volume d'échantillons, pour les eaux de rivière en particulier, ou les eaux de nappe rendues vulnérables par la présence à + ou - grande distance d'un industriel polluant potentiel.

.../...

Par une plus grande concentration il serait possible de tirer la sonnette d'alarme bien avant d'atteindre la C M A.

- l'extracteur liquide-liquide, mis au point par le Laboratoire de la Société Lyonnaise des Eaux pourrait, à notre sens, apporter un plus à cet égard.
- un prélèvement plus important, étalé sur une période de 48 heures donnerait une photo analytique plus fine et plus représentative de la situation.

2. Pour mieux guider les analyses et recherches il apparaît impératif :

- d'avoir des informations même limitées sur l'activité, sur les process et les fabrications de l'industrie examinée
- de connaître les produits "entrants", les intermédiaires de fabrication et les produits finis.

Cette meilleure connaissance permettrait :

- de mieux cibler les dosages
- d'identifier avec plus de certitude les micropolluants retrouvés en chromatographie
- de mieux quantifier les pics obtenus
- de mieux connaître en fait d'un point de vue qualitatif et quantitatif le contenu de l'échantillon analysé

3. Cette étude fort complète nous a permis de faire un Screening de tous les types de composés que l'on pourrait être amené à retrouver et des techniques analytiques pouvant être mises en oeuvre.

Pour chaque nouvelle situation nous pensons être à même d'indiquer :

- les conditions opératoires nécessaires pour le prélèvement (volume en particulier)
- la meilleure technique au point de vue rapport

.../...

coût/indications-résultats et ce en tenant compte de vos desiderata.

En formulant le voeu d'être plus associé aux opérations de prélèvement elles-mêmes, nous pensons qu'après un tel travail nous sommes à même :

- de poursuivre éventuellement les mêmes investigations auprès d'autres pollueurs, avec la nécessité d'une coupure plus grande entre deux campagnes d'analyses, ceci afin de mieux orienter la suivante par rapport à la précédente.
- d'aller plus loin dans les traces recherchées au niveau d'eaux de rivière ou de nappes en utilisant des techniques de concentration plus élaborées.

COMMENTAIRES DES ANALYSES DE TOXICITE EVALUEES
A L'AIDE DU TEST MICROTOX

PAR MADAME LE PROFESSEUR P. VASSEUR
CENTRE DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT
1, RUE DES RÉCOLLETS
57000 METZ

RESULTATS

* Les résultats des essais de toxicité sont présentés dans le tableau 1 dans l'ordre chronologique de leur réalisation.

Les moyennes des CI50 et celles des teneurs en équitox/m³ correspondantes sont données avec leur écart type évalué à partir des différents essais réalisés sur chaque échantillon.

Nous avons considéré comme non toxique (NT) les échantillons pour lesquels l'inhibition de luminescence reste inférieure à 50 % lorsqu'ils sont testés bruts. (ce qui correspond en fait à une dilution à 90 % de l'échantillon par suite de l'ajustement de salinité effectué lors de la préparation).

Un classement de ces échantillons en fonction de leur toxicité aiguë évaluée par le test bactérien, peut être effectué sur la base d'une échelle de toxicité établie arbitrairement comme suit :

- non toxique : pas de CI50 mesurable
- peu toxique : CI50 comprise entre 10 % et 100 %
soit toxicité comprise entre 1 et 10 équitox/m³.
- toxique : CI50 comprise entre 1 % et 10 %
soit toxicité comprise entre 10 et 100 équitox/m³.
- très toxique : CI50 < 1 %
soit toxicité > 100 équitox/m³

* Le classement des échantillons selon cette échelle est donné dans le tableau n° 2.

Il montre que :

- 3 échantillons présentent une toxicité aiguë très élevée ; ce sont les échantillons n° 10461, 11048 et 11628.
- 16 sont classés toxiques
- 33 sont classés peu toxiques : à ce niveau, une sous classification pourrait être faite pour distinguer les échantillons très peu toxiques dont la CI50 dépasse 50 % ce qui correspond à une toxicité aiguë inférieure à 2 équitox/m³.
- 50 des échantillons entraînent moins de 50 % d'inhibition de luminescence, testés bruts et peuvent être considérés non toxiques.

* Il nous a semblé intéressant d'estimer les seuils de toxicité, pour les échantillons toxiques en particulier, et d'évaluer les valeurs des CI10 et CI90 .

Il faut souligner que ces valeurs sont évaluées avec moins de précision que les valeurs de CI50.

Par ailleurs, les CI90 n'ont pu être estimés pour certains des échantillons "peu toxiques" qui provoquent moins de 90 % de diminution de la luminescence bactérienne lorsqu'ils sont testés sans être dilués.

La CI10 peut être considérée comme la concentration (ou dilution) maximale dépourvue d'effet toxique. Elle permet de déterminer à quel taux il faut diluer l'effluent brut pour que celui-ci ne présente quasiment plus de toxicité aiguë.

Ces valeurs sont présentées dans le tableau 3 pour les échantillons "toxiques" et "très toxiques", et dans le tableau 4 pour ceux classés "peu toxiques".

- Il apparaît qu'une dilution à 1/1000 des effluents 10461 et 11048 les rend atoxiques ; l'échantillon 11268 doit subir par contre une dilution supérieure à 1/2000 pour ne plus présenter de toxicité aiguë (tableau 3).

- En ce qui concerne les effluents toxiques, une dilution de l'ordre de 1/100, voire 1/200 pour les plus nocifs, suffit à annuler leur toxicité (tableau n°3).

- Les échantillons, classés "peu toxiques" et dont la CI50 dépasse 50 % (soit toxicité aiguë inférieure à 2 équitox/m³) peuvent être détoxiqués par une simple dilution au 1/10e.

Ceux dont la CI50 % se situe entre 10 % et 50 % (teneur en équitox/m³ comprise entre 2 et 10) - ce qui témoigne d'une toxicité supérieure - doivent subir une dilution plus importante, jusqu'à 1/40e pour certains, afin de devenir totalement atoxique (tableau n° 2).

Remarques :

L'analyse de l'échantillon 10210 (semaine 40) a posé quelques problèmes.

Il n'a pas été possible de déterminer de CI50 pour cet effluent : la courbe représentative de la relation dose-effet a présenté une forme en "dent de scie" pour les 6 essais effectués avec des réactifs bactériens différents, sur des dilutions croissantes de l'effluent (dilutions renouvelées à chaque série d'essai).

Semaine	Echantillon n°	pH		Toxicité aiguë (15°C - 15 min.)	
		initial	analyse	CI ₅₀ en %	équitox/m3
38	9834	8,03	id	83,5 ± 22	1,2 ± 0,3
	9835	7,58	id	NT *	NT
	9836	7,72	id	NT	NT
	9837	8,10	id	2,1 ± 0,2	48 ± 3,9
	9838	7,01	id	90 ± 18	1,15 ± 0,21
	9839	2,87	7,05	12,7 ± 4,9	9 ± 3
39	10015	6,45	id	8,6 ± 1,2	11,8 ± 1,6
	10016	7,65	id	NT	NT
	10017	7,22	id	15 ± 4,5	7,3 ± 2,5
	10018	8,75	8,75 7,02	46 ± 1 60 ± 12	2,1 ± 0,1 1,7 ± 0,3
	10019	7,90	id	NT	NT
	10020	7,13	id	38 ± 6	2,7 ± 0,4
40	10210	7,8	id	10 - 100 **	1 - 10
	10211	7,56	id	NT	NT
	10212	7,06	id	NT	NT
	10213	6,86	id	58,5 ± 11	1,7 ± 0,3
	10214	7,55	id	88 ± 9	1,1 ± 0,1
	10215	7,80	id	55 ± 1	1,8 ± 0,04
	10216	7,44	id	49,5 ± 3,8	2,0 ± 0,2
	10217	6,43	id	13,5 ± 0,7	7,4 ± 0,4
	10218	7,28	id	NT	NT

* NT = non toxique

** pas de relation dose-effet.

Tableau n° 1 : toxicité aiguë des échantillons testés à l'aide du test Microtox (à 15°C - 15 minutes)

Semaine	Echantillon n°	pH		Toxicité aiguë (15°C - 15 min.)	
		initial	analyse	CI en % 50	équitox/m3
41	10461	9,57	7,48	0,68 ± 0,13	151 ± 28
	10462	7,18	id	8,25 ± 0,63	12 ± 0,9
	10463	2,42	6,26	7,2 ± 2	14,5 ± 4,5
	10464	7,15	id	35 ± 14	3 ± 1
	10465	9,02	6,24	7,3 ± 2	14 ± 4
	10633	8,05	id	NT	NT
41 bis	10634	7,17	id	37 ± 11	2,8 ± 0,9
	10635	7,26	id	NT	NT
	10636	7,50	id	80 ± 25	1,3 ± 0,4
	10637	6,90	id	13 ± 3	8 ± 2
	10638	8,00	id	NT	NT
42	10815	7,74	id	NT	NT
	10816	7,70	id	NT	NT
	10817	7,55	id	NT	NT
	10818	7,75	id	NT	NT
	10819	7,40	id	NT	NT
	10820	7,96	id	NT	NT
	11048	6,64	id	0,8 ± 0,0	125 ± 0,0
	11049	7,97	id	25 ± 5	4 ± 0,8
	11051	7,42	id	NT	NT
	11052	7,26	id	7 ± 1,6	14 ± 3
	11053	7,13	id	NT	NT
	11054	8,20	id	NT	NT
42 bis	11055	7,57	id	2 ± 0,6	52 ± 14
	11056	7,20	id	NT	NT

Semaine	Echantillon n°	pH		Toxicité aiguë (15°C - 15 min.)	
		initial	analyse	CL ₅₀ en %	équitox/m3
42 bis suite	11057	7,24	id	4,0 ± 0,8	28 ± 5
	11058	7,58	id	NT	NT
	11059	7,50	id	NT	NT
	11060	7,30	id	15 ± 4	7 ± 2
	11061	6,99	id	NT	NT
43	11305	6,3	id	7,3 ± 7	26,5 ± 17
	11306	6,39	id	95 ± 7	1,1 ± 0,1
	11307	7,20	id	48 ± 5	2,1 ± 0,2
	11308	8,43	8,20	15 ± 2	6,8 ± 0,9
	11309	7,02	id	NT	NT
	11310	8,10	id	1,6 ± 0,3	65 ± 12
45	11622	6,84	id	NT	NT
	11623	6,30	id	NT	NT
	11624	7,40	id	NT	NT
	11625	6,85	id	67 ± 17	1,6 ± 0,3
	11626	8,05	id	3,3 ± 0,1	30 ± 1,4
	11627	7,93	id	NT	NT
	11628	7,02	id	0,19 ± 0,04	550 ± 105
	11629	1,23	6,36	6,2 ± 1,8	17 ± 5
	11630	7,30	id	NT	NT
	11631	7,20	id	18 ± 9	6,5 ± 3,5

Tableau n° 1 (suite)

Semaine	Echantillon n°	pH		Toxicité aiguë (15°C - 15 min.)		
		initial	analyse	CI ₅₀ en %	équitox/m3	
45 suite	11632	7,34	id	84 ± 20	1,2 ± 0,3	
	11633	8,06	id	NT	NT	
	11634	7,80	id	36,5 ± 9,5	2,8 ± 0,7	
	11635	7,71	id	12,5 ± 6,5	9 ± 5	
	11636	7,92	id	NT	NT	
	11892	2,60	6,64	34,5 ± 9,5	3,0 ± 0,9	
	11893	7,10	id	NT	NT	
	11894	7,90	id	NT	NT	
	45 bis	11895	7,58	id	NT	NT
		11896	6,50	id	11,7 ± 1,0	8,6 ± 0,8
11897				NT	NT	
46 *	11930	8,38	id	4 ± 0,3	25 ± 2	
	11931	7,33	id	6,9 ± 0,8	14 ± 2	
	11932	7,53	id	NT	NT	
	11933	7,12	id	9,6 ± 2,9	11 ± 3	
	11934	7,10	id	17,7 ± 3	6 ± 1	
	11935	7,41	id	10,5 ± 1,4	9,5 ± 1,3	
	11936	7,21	id	NT	NT	
	11937	7,20	id	NT	NT	
	11938	7,01	id	NT	NT	

* n° semaine non mentionné sur bordereau d'envoi.

Tableau n° 1 (suite).

Semaine	Echantillon n°	pH		Toxicité aiguë (15°C - 15 min.)	
		initial	analyse	CI en % 50	équitox/m3
47	12498	7,9	id	32,6 ± 18	6 ± 7
	12499	7,12	id	2,4 ± 0,9	46 ± 18
	12500	7,07	id	NT	NT
	12501	7,55	id	NT	NT
	12502	7,75	id	NT	NT
	12503	8,77	6,24	NT	NT
	12504	7,71	id	NT	NT
	12533	7,58	id	NT	NT
48	12899	6,95	id	17 ± 1	6 ± 0,3
	12900	7,11	id	NT	NT
	12901	7,12	id	32 ± 23	4 ± 2
	12902	9,87	6,10	13,3 ± 1,5	7,5 ± 0,7
50	13170	7,11	id	NT	NT
	13171	7,20	id	NT	NT
	13172	7,14	id	NT	NT
	13173	7,26	id	NT	NT

Tableau n° 1 (suite)

Semaine	CLASSIFICATION CI 50% éq/m ³	NON TOXIQUE	PEU TOXIQUE 100 % - 10 % 1 à 10	TOXIQUE 10 % - 1 % 10 à 100	TRES TOXIQUE 1 % 100 %
38		9835 9836	9834 9838 9839	9837	
39		10016 10019	10017 10018 10020	10015	
40		10211 10212 10218	10210 10213 10214 10215 10216 10217		
41			10464	10462 10463 10465	10461
41 bis		10633 10635 10638	10634 10636 10637		
42		10815 10816 10817 10818 10819 10820			
42 bis		11051 11053 11054 11056 11058 11059 11061	11049 11060	11052 11055 11057	11048
43		11309	11306 11307 11308	11305 11310	

Tableau n° 2 : Classement des échantillons sur la base des valeurs de CI₅₀ évaluée à l'aide du test Microtox.

Semaine	CLASSIFICATION CI ₅₀ % équitor/m ³	NON TOXIQUE	PEU TOXIQUE 100 % - 10 % 1 à 10	TOXIQUE 10 % - 1 % 10 à 100	TRES TOXIQUE 1 % 100 %
45		11622 11623 11624 11627 11630 11633 11636 11893 11894 11895 11897	11625 11631 11632 11634 11635 11892	11626 11629	11628
46		11932 11936 11937 11938	11934 11935	11930 11931 11933	
47		12500 12501 12502 12503 12504 12533	12498	12499	
48		12900	12899 12901 12902		
50		13170 13171 13172 13173			

Tableau n° 2 : classement des échantillons sur la base des valeurs de CI50 évaluée à l'aide du test Microtox.
(suite)

Tableau n° 3 : Seuils de toxicité des échantillons classés toxiques et très toxiques.

Class.	Semaine	Echant. n°	CI en %		
			10	50	90
très toxiques	41	10461	0,15 ± 0,03	0,68 ± 0,13	2,4 ± 0,7
	42	11048	0,14 ± 0,08	0,8 ± 0,0	4,5 ± 2
	"	11628	0,04 ± 0,02	0,19 ± 0,04	0,9 ± 0,2
toxiques	38	9837	0,5 ± 0,1	2,1 ± 0,2	8,5 ± 0,2
	39	10015	1,1 ± 0,4	8,6 ± 1,2	65 ± 10
	41	10462	1,9 ± 0,1	8,25 ± 0,63	30 ± 10
	"	10463	1,3 ± 0,9	7 ± 2	40 ± 1
	"	10465	1,2 ± 0,5	7 ± 2	40 ± 10
	42	11052	1,3 ± 0,5	7 ± 1,6	39 ± 0,3
	"	11055	0,45 ± 0,2	2 ± 0,6	9 ± 1,8
	"	11057	1 ± 0,35	4,0 ± 0,8	17 ± 0,8
	43	11305	0,9 ± 0,7	7,3 ± 7	42 ± 34
	"	11310	0,4 ± 0,2	1,6 ± 0,3	6 ± 1,8
	45	11626	0,8 ± 0,1	3,3 ± 0,1	13,8 ± 0,2
	"	11629	1,7 ± 0,6	6,2 ± 1,8	22 ± 6
	46	11930	0,70 ± 0,15	4,0 ± 0,3	26 ± 10
	"	11931	1,9 ± 0,7	6,9 ± 0,8	26 ± 5
	"	11933	3,5 ± 2,8	9,6 ± 2,9	30 ± 9
47	12499	1,25 ± 0,5	2,4 ± 0,9	4,5 ± 1,6	

semaine	n°	CI en %			
		10	50	90	
38	9834	14 — 35	83,5 ± 22 **	/ *	
	9838	13	90 ± 18	/	
	9839	3 ± 1,5	12,7 ± 4,9	> 60	
39	10017	2,5 ± 1	15 ± 4,5	91 ± 9	
	10018	pH 8,75 7,02	9	46 ± 1	/
		11 ± 2	60 ± 12	/	
	10020	7,5 ± 1	38 ± 6	/	
40	10213	10 ± 5	58,5 ± 11	/	
	10214	17 ± 2	88 ± 9	/	
	10215	8 ± 4	55 ± 1	/	
	10216	8,5 ± 1	49,5 ± 3,8		
	10217	3,5 ± 0,0	13,5 ± 0,7	53 ± 5	
41	10464	2 — 12	35 ± 14	/	
	10634	5 ± 3	37 ± 11	/	
	10636	6 — 30	80 ± 25	/	
	10637	3 ± 0,7	13 ± 3	57 ± 15	
42	11049	6 ± 2	25 ± 5	99 ± 1	
	11060	4,8 ± 1,6	15 ± 4	46 ± 11	
43	11306	32 — 65	95 ± 7	/	
	11307	10 ± 1,5	48 ± 5	/	
	11308	2,5 ± 0,5	15 ± 2	83 ± 10	
45	11625	16 ± 5	67 ± 17	/	
	11631	1 — 5	18 ± 9	/	
	11632	9 — 20	84 ± 20	/	
	11634	4 ± 1,5	36,5 ± 9,5	/	
	11635	1,5 — 4	12,5 ± 6,5	54 ± 12	
46	11934	1 — 6	17,7 ± 3	30 ± 9	
	11935	2,5 ± 1	10,5 ± 1,4	45 ± 6	
47	12498	6,5 ± 5	32,6 ± 18	/	
48	12899	4 ± 1	17 ± 1	72 ± 7	
	12901	9 ± 8	32 ± 23	85 ± 20	
	12902	4 ± 1	13,3 ± 1,5	44 ± 1	

* Seuil non atteint : l'effluent testé brut provoque une inhibition de luminescence inférieure à 90 %.

** Valeurs extrêmes

Tableau n° 4 : seuils de toxicité des échantillons classés "peu toxiques".