



22579 RM



IRH Environnement
Direction de la Recherche
Service Microbiologie et Ecotoxicologie
Michel JAUZEIN, Marie José JOURDAIN et Antonio BISPO
11 bis Rue Gabriel PERI
545 5 Vandoeuvre les Nancy
Tel 03.83.50.36.51
Fax 03.83.50.36.99

ENSU-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 like, apparition d'H₂S...) 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

OBJET DU RAPPORT	9
PHASE 1	10
1. Intérêts des tests de phytotoxicité	11
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
2. Les tests de phytotoxicité	12
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
3. Le protocole utilisé lors de l'étude de la phytotoxicité des boues de station d'épuration, campagne sur 37 boues (1996)	24
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 ₅₀ , CSE0 et CME0)	26
3.7. Conclusions	27
4. Résultats des analyses chimiques et écotoxiques réalisées sur les 5 boues	27
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 micropolluants 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 préliminaires	31
4.2.2.2. Essais définitifs	32
5. Comparaison avec les résultats de la précédente campagne	35
6. Recommandations et propositions	35
6.1. Recommandations	35
6.2. Propositions : uniformisation de la structure des boues avant les essais de phytotoxicité	36

	5
PHASE 2	38
1. Intérêt du fractionnement des boues	39
1.1. Méthodes de fractionnement	39
1.1.1. Données bibliographiques	39
1.1.2. Fractionnement des polluants dissous dans le lixiviat	39
1.1.3. Fractionnement de polluants dissous dans un extrait organique de la boue	41
1.1.4. Limites de ces méthodes	41
2. Protocole de fractionnement proposé	41
2.1. Tests biologiques et blancs	45
2.1.1. Définition des blancs	45
2.1.2. Réalisation des essais biologiques	45
PHASE 3	47
1. Prélèvement et préparation des boues	48
2. Obtention et variabilité des différents extraits	49
2.1. Extraits A et B	49
2.2. Extraits C, D et E	51
3. Résultats obtenus	52
3.1. Essai de germination sur les surnageants 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 racinaire sur les différents extraits obtenus par le fractionnement	54
4. Etape de confirmation	58
5. Comparaison des essais de toxicité avec les résultats chimiques des différents extraits	61
6. Conclusion et améliorations proposées	62
BIBLIOGRAPHIE	64
ANNEXES	69

6. Conclusion et améliorations proposées

La technique de fiacionnement utilisée a permis d'identifier les fractions les plus toxiques issues des boues industrielles sélectionnées. Elle repose sur un pré-traitement de la boue par congélation-centrifugation. Le surnageant récupéré ainsi que le culot sont ensuite utilisés pour conduire le fiacionnement et les tests de toxicité. **Aux** vues des résultats obtenus, ce protocole de caractérisation des fractions toxiques pourrait être complété et amélioré en incluant les modifications suivantes :

- l'analyse phytotoxique des fractions pourrait être réalisée avec des tests plus simples, nécessitant moins de volumes, ce qui permettrait d'éviter la dilution des extraits. Des tests de germination, comme ceux réalisés sur filtre en boîte de Pétri, seraient à envisager. En effet, ceux-ci se sont montrés performants quant à l'évaluation de l'eau interstitielle des boues.
- l'analyse chimique et écotoxique de l'eau interstitielle et de l'eau liée obtenues **par** congélation-centrifugation est à envisager **dans** un protocole compte tenu **de** la forte toxicité mise en évidence dans ces essais (les extraits ainsi obtenus sont plus concentrés).
- Le fiacionnement pourrait être étendu au culot, ainsi, après chaque étape (lixiviation, extraction soxhlet..), des essais de phytotoxicité pourraient être réalisés sur l'échantillon solide obtenu. Ces essais permettraient de comparer la toxicité de la phase solide d'une part et d'autre part, la toxicité des extraits.
- le recours à l'EDTA comme chélatant (classiquement utilisé dans les expériences de fiacionnement de la toxicité sur les effluents) est discutable pour les plantes terrestres. D'autres techniques de complexation sont à envisager comme l'utilisation des sulfures (qui précipitent les métaux et peuvent être éliminés de la solution à tester **par** filtration) ou de résines échangeuses d'ions.

L'utilisation de boues plus contaminées (dopées au laboratoire par exemple) permettrait d'augmenter les réponses toxiques et d'exagérer les différences entre extraits, facilitant l'interprétation et la validation du protocole.

Une telle technique de fiacionnement, reliée à la connaissance du process de production et d'épuration (techniques et molécules utilisées), permettrait 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, lors de la production ou du traitement.

Finalement, les variations de toxicité observées, pour une même boue, en fonction de la date **de** prélèvement, soulignent la nécessité de réaliser plusieurs sondages et caractérisations dans le temps. Cette démarche, plutôt qu'une analyse ponctuelle, permettrait de connaître les fluctuations de la toxicité des boues qui pourraient être reliées à des modifications du process.

La technique de fractionnement de la toxicité permet de définir la phytotoxicité des boues et donc d'orienter leur devenir mais également d'envisager, en amont, des modifications pour limiter ou supprimer cette phytotoxicité.